

UNA APROXIMACIÓN MECANÍSTICA AL PROBLEMA DE LAS ENFERMEDADES FOLIARES EN EL CULTIVO DE TRIGO.

*Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires,
Área Ciencias Agropecuarias*

Ramiro Carretero

Ingeniero Agrónomo - Facultad de Agronomía - Universidad de Buenos Aires
Año de egreso: 2004

Lugar de trabajo: Cátedra de Cerealicultura
Facultad de Agronomía - Universidad de Buenos Aires



FAUBA

Escuela para Graduados Ing. Agr. Alberto Soriano
Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires



COMITÉ CONSEJERO

Director de tesis

Daniel Julio Miralles

Ingeniero Agrónomo (Universidad de Buenos Aires)

Doctor en Ciencias Agropecuarias (Universidad de Buenos Aires)

Co-director

Marie Odile Bancal

Ingenieer (Institut National Agronomique-Paris Grignon)

Philosophy Doctor(Institut National Agronomique-Paris Grignon)

Consejero de Estudios

Analía Edith Perelló

Ingeniera Agrónoma (Universidad Nacional de La Plata)

Doctora en Ciencias Natulares (Universidad Nacional de La Plata)

JURADO DE TESIS

Director de tesis

Daniel Julio Miralles

Ingeniero Agrónomo (Universidad de Buenos Aires)

Dcoctor en Ciencias Agropecuarias (Universidad de Buenos Aires)

JURADO

Octavio Caviglia

Ingeniero Agrónomo (Universidad Nacional de Entre Ríos)

Doctor en Ciencias Agropecuarias (Universidad Nacional de Mar del Plata)

JURADO

Gustavo Gabriel Striker

Ingeniero Agrónomo (Universidad de Buenos Aires)

Doctor en Ciencias Agropecuarias (Universidad de Buenos Aires)

JURADO

María Laura Ramirez

Microbióloga (Universidad Nacional de Río Cuarto)

Doctora en Ciencias Biológicas (Universidad Nacional de Río Cuarto)

Fecha de defensa de la tesis: 23 de Mayo de 2011

A Vicky y a Salvador

A mis padres, hermanos y abuelos

AGRADECIMIENTOS

Mis agradecimientos especiales a mis directores de tesis Daniel Miralles y Marie Odile Bancal y a mi compañero y amigo Román Serrago.

Daniel, muchas gracias por darme la posibilidad de participar en “tu” grupo de trabajo (Grupo Trigo) en el cual encuentre el apoyo académico y humano fundamental para el desarrollo de esta tesis. Muchas gracias por tu paciencia y compromiso incansables e incondicionales para conmigo, mis ideas, cuestionamientos y desilusiones. Gracias por haberme brindado tu excelencia académica y fundamentalmente por inculcarme lo importante que es la solidaridad y el trabajo en equipo.

Román, “Gringo”, muchas gracias por estar siempre. Gracias por todos tus aportes, tantos y tan valiosos como los de Daniel mismo. Gracias por transmitirme esa serenidad y respeto que te caracterizan y gracias por intentar volverme siempre al centro del camino.

Marie Odile, muchas gracias por abrirme las puertas de tu casa de estudios permitiéndome interactuar con un mundo académico diferente y así ampliar mi visión y formación académica. Gracias por tu hospitalidad y apoyo cada vez que tuve la suerte de visitar el INRA-Grignon. Gracias por todos tus aportes en las discusión de resultados y conclusiones de esta tesis y los manuscritos derivados de ella.

Un agradecimiento especial a Analía Perello y Cristina Cordo, y por intermedio de ellas a todo a su equipo del CIDEFI (Centro de Investigaciones de Fitopatología de La Plata), por el apoyo totalmente desinteresado en la determinación de patógenos y en la provisión del inóculo necesario para llevar adelante mis tratamientos.

Gracias a Edy Ploschuck y Herve Auret por la paciencia y el tiempo dedicado a enseñarme a tomar mediciones de intercambio gaseoso.

Gracias Antonio Hall por sus valiosos aportes en la discusión de los resultados surgidos de esta tesis.

Gracias a todos los integrantes de la Cátedra de Cereales por el afecto y apoyo brindado a lo largo de todo este tiempo.

Gracias por haber estado siempre que se les pidió una mano, punto de vista u opinión y por brindarme su amistad: Nacho, Pablito, Gaby, Guille, Negro, Fede, Ernesto, Flaco, Dody, Beto, Gaspar, Nico, Joaquín, Sebas.

Gracias al CONICET por financiar mis estudios de posgrado; a la SECyT, el Comité ECOS-SUD y la Facultad de Agronomía de la UBA por financiar mis viajes y estancias en INRA-Grignon (Francia). A la Facultad de Agronomía de la UBA por brindarme un espacio físico y los medios para desarrollar mi posgrado.

Gracias a los revisores del proyecto y a los jurados de esta tesis por aceptar la revisión y por el tiempo dedicado.

Un agradecimiento muy especial a mi familia toda. A mis padres por su apoyo y aliento constantes. A Vicky y mis hermanos por su incondicional apoyo y afecto y por haberme soportado en los momentos más difíciles de esta carrera. Sin ustedes no hubiese sido posible esta tesis.

Muchas gracias a todos quienes supieron y pudieron aguantar a tamaño “testarudo”.

“Declaro que el material incluido en esta tesis es, a mi mejor saber y entender, original producto de mi propio trabajo (salvo en la medida en que se identifique explícitamente las contribuciones de otros), y que este material no lo he presentado, en forma parcial o total, como una tesis en ésta u otra institución”.

PUBLICACIONES DERIVADAS DE LA TESIS

- Carretero, R.; Serrago R. A.; Bancal, M. O.; Perelló, A. E. and Miralles, D. J. 2010. Absorbed radiation and radiation use efficiency as affected by foliar diseases in relation to their vertical position into the canopy in wheat. *Field Crops Research*. 116: 184-195.
- Miralles, D. J.; Serrago R. A.; y Carretero, R. 2007. Generación del rendimiento en trigo: desarrollo, crecimiento y determinación de los componentes del rendimiento. En: *Producción de trigo, Asociación Argentina de Consorcios Regionales de Experimentación Agrícola-AACREA*, pp. 15-26.
- Carretero, R.; Bancal, M.O. and Miralles, D.J. 2011. Effect of leaf rust (*Puccinia triticina*) on photosynthesis and related processes of leaves in wheat crops grown at two contrasting sites and with different nitrogen levels. *Eur. J. Agron.* In press.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xii
ABREVIATURAS.....	xv
RESUMEN	xvii
ABSTRACT.....	xviii
CAPÍTULO 1	1
Introducción general: presentación del problema a estudiar y revisión de antecedentes..	1
1.1. Introducción	1
1.1.1. Variables ecofisiológicas determinantes de la producción de biomasa.....	2
1.1.2. Efecto de las enfermedades foliares sobre las variables ecofisiológicas de determinación de biomasa	3
1.1.3. Efecto de las enfermedades foliares sobre los componentes del rendimiento (número y peso de granos).....	8
1.2. Objetivos	9
1.2.1. Objetivo general:	9
1.2.2. Objetivos específicos:.....	9
1.3. Hipótesis.....	10
CAPÍTULO 2	12
Materiales y métodos generales	12
2.1. Condiciones generales.....	12
2.2. Tratamientos y diseño experimental.....	13
2.2.1. Tratamientos de nitrógeno	13
2.2.2. Tratamientos de enfermedades	13
CAPÍTULO 3	15
Cambios en la absorción y eficiencia de uso de radiación en relación con la posición vertical de las enfermedades dentro del canopeo.....	15
3.1. Introducción	15
3.2. Materiales y métodos	17
3.2.1. Diseño experimental y tratamientos	17
3.2.2. Mediciones y cálculos	17

3.2.3. Análisis estadístico	20
3.2.4. Análisis de sensibilidad de E_i y E_{aL} debido a variaciones en el coeficiente de extinción lumínica (k) y a diferentes distribuciones de las enfermedades entre los estratos foliares del canopeo	20
3.3. Resultados	21
3.3.1. Evolución de enfermedades	21
3.3.2. Índice de área foliar, E_i y E_a a nivel de canopeo	24
3.3.3. Índice de área foliar verde, E_i y E_a para los distintos estratos foliares	28
3.3.4. Efectos de las enfermedades sobre la E_a para cultivos con diferentes valores de IAF y k	31
3.3.5. Radiación interceptada acumulada (RFA _i), absorbida acumulada (RFA _a), biomasa y EUR	33
3.4. Discusión	37
3.4.1. Conclusiones	41
CAPÍTULO 4	42
¿Cómo la fotosíntesis de la hoja y los procesos relacionados son afectados por la roya de la hoja (<i>Puccinia triticina</i>) en un cultivo de trigo creciendo bajo diferentes disponibilidades de nitrógeno?	42
4.1. Introducción	42
4.2. Materiales y métodos	44
4.2.1. Condiciones generales	44
4.2.2. Mediciones	44
4.2.3. Cálculos y análisis de datos	45
4.3. Resultados	47
4.3.1. Condiciones ambientales exploradas por las hojas muestreadas	47
4.3.2. Fotosíntesis de hojas sanas y enfermas a saturación lumínica	48
4.3.3. Parámetros de la curva de respuesta fotosíntesis-radiación	50
4.3.4. Efectos de la enfermedad sobre los atributos determinantes de la fotosíntesis	52
4.4. Discusión	55
4.4.1. Conclusiones	59
CAPÍTULO 5	60

Discusión General.....	60
5.1. Contexto de la problemática abordada.....	60
5.2. Variables ecofisiológicas determinantes de la producción de biomasa: ¿Cómo son afectadas por las enfermedades foliares?	60
5.3. Efecto de la roya de la hoja sobre la fotosíntesis foliar y procesos relacionados..	65
5.4. Aplicaciones de los resultados del presente estudio.....	68
5.5. Nuevos interrogantes surgidos a partir del presente estudio	70
5.5.1. Tolerancia a enfermedades en cultivares con altos valores de k	70
5.5.2. Efectos de la roya de la hoja sobre la fotosíntesis de hojas expuestas a intensidades de luz cambiantes según su posición vertical en el canopeo y momento del día.	70
5.5.3. Efecto de la roya de la hoja sobre procesos relacionados con la fotosíntesis	70
BIBLIOGRAFÍA	72

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 3.1.: Valores simulados de eficiencia de intercepción de radiación (E_i) para el cultivo (Total) y para los estratos foliares HB (hoja bandera), HB-1 y HB-2 y; pérdida total de absorción de radiación (PRA) considerando que las enfermedades: (i) se concentraron en la hoja bandera (HB), (ii) en el tercer estrato foliar (HB-2) y (iii) cuando estas se distribuyeron uniformemente entre los tres estratos foliares superiores del cultivo (Uniforme). Entre paréntesis se muestra el porcentaje de E_i de cada uno de los estratos relativo a la E_i total. Para las simulaciones se consideró un valor de severidad (promedio de los tres estratos superiores) de 12.8%. 32

Tabla 3.2.: Radiación fotosintéticamente activa interceptada acumulada durante el período de llenado de granos por: (i) Área foliar verde (Radiación absorbida, RFA_{aL}), (ii) Área foliar no verde, (iii) Área foliar total (Radiación interceptada, RFA_i) para los tratamientos protegido (P) y no protegido (NP) y de baja (N0) y alta (N1) disponibilidad nitrogenada durante los años 2004, 2005 y 2007. Se incluye análisis estadístico de los efectos principales de nitrógeno (N) y control de enfermedades (CE) y su interacción (N x CE). F.V.= fuente de variación de ANVA..... 34

Tabla 3.3.: Biomasa aérea acumulada durante el período de llenado de granos para los tratamientos protegido (P) y no protegido (NP) y de baja (N0) y alta (N1) disponibilidad nitrogenada durante los años 2004, 2005 y 2007. Se incluye análisis estadístico de los efectos principales de nitrógeno (N) y control de enfermedades (CE) y su interacción (N x CE). F.V.= fuente de variación de ANVA..... 35

Tabla 3.4.: Eficiencia de uso de la radiación absorbida en pos-antesis calculada con el modelo de estrato foliar (EUR_L) para los tratamientos protegido (P) y no protegido (NP), bajo baja (N0) y alta (N1) disponibilidad nitrogenada durante los años 2004, 2005

y 2007. Se incluye análisis estadístico de los efectos principales de nitrógeno (N) y control de enfermedades (CE) y su interacción (N x CE). F.V.= fuente de variación de ANVA36

Tabla 4.1.: Valores promedio de F_{\max} de hojas sanas (\pm medio intervalo de confianza de 95%) y estimaciones del parámetro β (\pm medio intervalo de confianza de 95%) para diferentes experimentos (años, sitios y fechas de siembra), para baja y alta disponibilidad nitrogenada (N0 y N1) y para el set completo de datos dentro de cada experimento (Todos). Se incluye el número de datos F_x/F_0 utilizados en cada caso (n) y el coeficiente de correlación (R^2) para el ajuste de los datos al modelo de Bastiaans (1991).49

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1.: Diagrama teórico de generación de biomasa en el cultivo de trigo considerando el recurso radiación.....	3
Figura 1.2.: Esquema de la relación entre las eficiencias de intercepción (E_i) y absorción (E_a) y el índice de área foliar (IAF) para cultivos con diferente grado de severidad de enfermedades foliares (0, 20 y 50%). En un cultivo sano (0% severidad) la radiación absorbida es igual a la radiación interceptada. IAF crítico = IAF para el 95 % de intercepción de radiación. El coeficiente de extinción lumínica utilizado para el cálculo fue de 0.57.	5
Figura 3.1.: Severidad de roya de la hoja (porcentaje de área cubierta con esporas) y de los patógenos necrotróficos (porcentaje de necrosis debido a patógenos necrotróficos) durante el período de llenado de granos para el tratamiento NP. Se muestran datos provenientes de dos tratamientos de disponibilidad nitrogenada (N0 y N1) y tres años de experimento (2004, 2005 y 2007). Los patógenos necrotróficos son considerados en conjunto (ver Materiales y métodos). HB (Hoja bandera), HB-1 y HB-2 se representan con cuadrados, triángulos y círculos, respectivamente. Las barras verticales indican el error estándar.....	23
Figura 3.2.: Índice de área foliar total (IAF, cuadrados con líneas continuas) e Índice de área foliar verde (IAFv, círculos con líneas cortadas) durante el período de llenado de granos para los tratamientos P (símbolos llenos) y NP (símbolos vacíos) y para ambas condiciones de disponibilidad nitrogenada (N0 y N1) en los tres años de experimento (2004, 2005 y 2007). La línea horizontal cortada indica el IAF crítico (i.e. valor de IAF para el cual el cultivo intercepta el 95% de la máxima radiación posible de ser interceptada). Las barras verticales indican el error estándar.	25
Figura 3.3.: Eficiencia de intercepción de radiación (E_i) en función del Índice de área foliar (IAF) utilizadas para las estimaciones de los parámetros a y k a partir de la ecuación 3.1. Los símbolos llenos y vacíos indican los tratamientos P y NP, respectivamente (datos de 2004 y 2005). La tabla inserta muestra los parámetros estimados (\pm medio intervalo de confianza, 95%) para los diferentes tratamientos de disponibilidad de N, de enfermedades y para el conjunto de los datos. Se muestra el coeficiente de correlación (R^2) para cada situación.	27
Figura 3.4.: Eficiencia de intercepción de radiación (E_i , cuadrados con líneas continuas) y eficiencia de absorción de radiación calculada con el modelo de estrato foliar (E_{aL} , círculos con líneas cortadas) durante el período de llenado de granos para los tratamientos P (símbolos llenos) y NP (símbolos vacíos) y para ambas condiciones de disponibilidad nitrogenada (N0 y N1) en los tres años de experimento (2004, 2005 y 2007). Las barras verticales indican el error estándar de las medias.	28
Figura 3.5.: Índice de área foliar para diferentes estratos foliares durante el período de llenado de granos para los tratamientos P (símbolos llenos) y NP (símbolos vacíos) y para ambas condiciones de disponibilidad nitrogenada (N0 y N1) en los tres años experimentales (2004, 2005 y 2007). HB (Hoja bandera), HB-1 y HB-2 se representan con cuadrados, triángulos y círculos, respectivamente Las barras verticales indican el error estándar de las medias.	29

Figura 3.6.: Eficiencia de absorción de radiación para diferentes estratos foliares durante el período de llenado de granos para los tratamientos P (símbolos llenos) y NP (símbolos vacíos) y para ambas condiciones de disponibilidad nitrogenada (N0 y N1) en los tres años de experimento (2004, 2005 y 2007). HB (Hoja bandera), HB-1 y HB-2 se representan con cuadrados, triángulos y círculos, respectivamente. Las barras verticales indican el error estándar de las medias. 31

Figura 3.7.: (A) Radiación fotosintéticamente activa absorbida acumulada calculada con el modelo de canopy (RFAa_C) vs radiación fotosintéticamente activa absorbida acumulada calculada con el modelo de estrato foliar (RFAa_L) durante el período de llenado de granos. (B) Eficiencia de uso de la radiación absorbida calculada con el modelo de canopy (EUR_C) vs eficiencia de uso de la radiación absorbida calculada con el modelo de estrato foliar (EUR_L) durante el período de llenado de granos. Símbolos llenos y vacíos indican tratamientos P y NP, respectivamente. Los tratamientos N0 y N1 son representados con triángulos y círculos, respectivamente. Datos provenientes de todos los años de experimento. La línea diagonal indica la relación 1:1 37

Figura 4.1.: Relaciones entre la diferencia de presión de vapor (DPV) y la Temperatura (T°) de hojas enfermas y sanas para bajo (símbolos vacíos) y alto (símbolos llenos) nivel de disponibilidad nitrogenada. La línea diagonal llena representa la relación 1:1 entre variables y las líneas punteadas indican el límite del 20% superior e inferior respecto de la relación 1:1. Las barras horizontales y verticales indican el error estándar en el eje x y en el eje y, respectivamente. Se incluyen datos de todos los experimentos. 48

Figura 4.2.: Tasa de fotosíntesis relativa (F_x/F_0) en relación a la severidad de roya de la hoja (proporción) para diferentes experimentos (años, sitios y fechas de siembra) y para ambos tratamientos de nitrógeno: N0 (símbolos vacíos) y N1 (símbolos llenos). El modelo de Bastiaans ajustado a los datos de los tratamientos N0 y N1 está representado por las curvas punteada y continua, respectivamente. La línea diagonal punteada indica la relación 1:1. La estimación de los parámetros del modelo ajustado se muestra en la Tabla 4.1. 50

Figure 4.3.: (A) Tasa de respiración relativa (R_x/R_0); (B) Fotosíntesis bruta máxima relativa ($F_{bruta\ x}/F_{bruta\ 0}$) y (C) Eficiencia cuántica aparente relativa (ϵ_x/ϵ_0) en relación a la severidad de roya de la hoja (proporción). Símbolos vacíos y llenos indican los tratamientos N0 y N1, respectivamente. El modelo de Bastiaans ajustado a los datos de la tasa de fotosíntesis neta máxima y a la tasa de fotosíntesis bruta máxima está representado por las curvas punteada y continua, respectivamente. La línea diagonal punteada representa la relación 1:1. Datos provenientes del ajuste de la ecuación 4.2 a los datos del experimento 2007BA. 51

Figura 4.4.: (A) Conductancia estomática (g_s) del área verde de hojas enfermas en relación a hojas sanas para todos los experimentos (2005G1 y 2005G2: cuadrados; 2005BA y 2007BA: círculos) y para baja (símbolos abiertos) y alta (símbolos llenos) disponibilidad nitrogenada. La línea diagonal llena representa la relación 1:1 entre variables y las líneas punteadas indican el límite del 20% superior e inferior respecto de la relación 1:1. Las barras verticales indican el error estándar. (B) Conductancia relativa (i.e. g_s del área verde de hojas enfermas / g_s de hojas sanas, ambas medidas cercanas en el tiempo). Para diferentes rangos de g_s de hojas sanas y para condiciones de baja (barras vacías) y alta (barras llenas) disponibilidad de nitrógeno. Las barras verticales indican el error estándar. Los asteriscos indican diferencia significativa ($p < 0.05$) respecto de 1. 53

Figura 4.5.: Concentración interna de CO₂ (Ci) en relación a la conductancia estomática (g_s) del área foliar verde considerando los datos de todos los experimentos (2005G1: círculos gises; 2005G2: círculos negros; 2005BA: cuadrados vacíos; 2007BA: triángulos grises) dentro de cada tratamiento de N (N0 y N1). Los datos de las hojas enfermas se agruparon de acuerdo con cuatro rangos de severidad (0-5%; 5-10%; 10-20% y mayor de 20%) y se ajustaron al modelo $y = a - b * \exp^{-c * x}$ (curvas punteadas). Los datos de las hojas sanas fueron ajustados al mismo modelo (curvas continuas). Para permitir la comparación, las curvas ajustadas por las hojas sanas (curvas continuas) se repiten en todos los gráficos de hojas enfermas para cada tratamiento de N. El parámetro a estimado (\pm medio intervalo de confianza, 95%), el cual indica el máximo valor de Ci posible de ser alcanzado bajo condiciones de no limitación por g_s se muestra en cada gráfico. 54

Figura 4.6.: Fotosíntesis neta máxima del área verde (F_{max}) en relación a las unidades SPAD del área verde para los tratamientos N0 y N1 del experimento 2007BA. Los símbolos vacíos y llenos indican hojas enfermas y sanas, respectivamente. Se muestra la línea de ajuste lineal para ambos set de datos. 55

Figura 5.1.: Diagrama simplificado que muestra las principales variables ecofisiológicas que determina la generación de biomasa del cultivo. Se muestran las relaciones funcionales entre dichas variables (gráficos) y el efecto causado por las enfermedades foliares en las mismas (flechas negras). RFA: radiación fotosintéticamente activa. En la tesis este modelo fue validado para el período de llenado. 62

Figura 5.2.: Esquema simplificado que muestra las principales variables y procesos determinantes de la fotosíntesis foliar. Las flechas gruesas indican el sentido del efecto de la roya de la hoja sobre cada variable. Las flechas negras indican efectos medidos mientras que las blancas indican efectos probables. Ca: concentración de CO₂ ambiental; Ci concentración interna de CO₂ (en la cámara sub-estomática) y Cc: concentración de CO₂ a nivel de cloroplastos. 66

ABREVIATURAS

Ci: concentración de CO₂ interna ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$ de aire)

DPV: diferencia de presión de vapor hoja-ambiente (kPa)

ε : eficiencia cuántica aparente ($\mu\text{mol de CO}_2 \mu\text{mol fotones}^{-1}$)

Ei: Eficiencia de intercepción

Ea_C: Eficiencia de absorción de radiación calculada con el modelo de canopeo (Ecuación 3.3)

Ea_L: Eficiencia de absorción de radiación calculada con el modelo de estrato foliar (Ecuación 3.2)

EUR: Eficiencia de uso de la radiación (g MJ^{-1})

EUR_C: Eficiencia de uso de la radiación calculada con el modelo de canopeo (g MJ^{-1})

EUR_L: Eficiencia de uso de la radiación calculada con el modelo de estrato foliar (g MJ^{-1})

F_{bruta}: Tasa de fotosíntesis bruta (i.e. F_{neta} + R) ($\mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)

F_{max}: Tasa de fotosíntesis neta máxima (i.e. a saturación lumínica) ($\mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)

F_{neta}: Tasa de fotosíntesis neta ($\mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)

F_x: Tasa de fotosíntesis neta máxima de una hoja con nivel de severidad x ($\mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)

F₀: Tasa de fotosíntesis neta máxima de una hoja sana ($\mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)

gl: grados de libertad

g_s: conductancia estomática ($\text{mol de H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)

HB: Hoja bandera

HB-1: Hoja inmediatamente por debajo de la hoja bandera

HB-2: Hoja dos posiciones por debajo de la hoja bandera

HTS: hojas totalmente senescidas

I: radiación fotosintéticamente activa incidente ($\mu\text{mol de fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)

IAF: Índice de área foliar total

IAFv: Índice de área foliar verde

IAFnv: Índice de área foliar no verde

k: coeficiente de extinción lumínica

PRa: pérdidas en absorción de radiación (debido a intercepción de radiación por área foliar enferma) (%)

R: tasa de respiración ($\mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)

RFAi: Radiación fotosintéticamente activa interceptada acumulada durante el período de llenado de granos (MJ m^{-2})

RFAa_C: Radiación fotosintéticamente activa absorbida acumulada durante el período de llenado de granos, calculada con el modelo de canopeo (MJ m^{-2})

RFAa_L: Radiación fotosintéticamente activa absorbida acumulada durante el período de llenado de granos, calculada con el modelo de estrato foliar (MJ m^{-2})

UNA APROXIMACIÓN MECANÍSTICA AL PROBLEMA DE LAS ENFERMEDADES FOLIARES EN EL CULTIVO DE TRIGO

RESUMEN

Las decisiones de manejo de enfermedades foliares en el cultivo de trigo se basan generalmente en el uso de umbrales contruidos a partir de relaciones empíricas que relacionan el nivel de reducción del rendimiento con el nivel de enfermedad presente en el cultivo en un momento dado. Dichas relaciones no consideran aspectos ecofisiológicos que hacen a la generación del rendimiento limitando la extrapolación de dichos umbrales a situaciones agronómicas distintas de aquellas en las que se contruyeron. Comprender como las enfermedades interfieren en los procesos fisiológicos que determina la producción de biomasa y el rendimiento es de relevancia para estimar con mayor precisión y para un mayor rango de condiciones las mermas de producción originadas por las mismas. En esta tesis se exploró el efecto de las principales enfermedades foliares sobre distintos procesos fisiológicos vinculados con la generación de biomasa a partir de la medición en parcelas a campo de variables: i) a nivel de canopeo: índice de área foliar y, eficiencias de intercepción, absorción y uso de radiación entre otras y; ii) a nivel de hoja: fotosíntesis y variables relacionadas. La fotosíntesis del área verde de hojas enfermas solo se redujo bajo condiciones de saturación lumínica pero no ante condiciones de baja irradiancia, no observándose diferencias para tales efectos entre los tratamientos de alta y baja disponibilidad de nitrógeno. Considerando que las hojas de un cultivo se encuentran expuestas a niveles cambiantes de radiación debido a cambios en la incidencia de los rayos solares y a la extinción de luz en el canopeo es esperable que la reducción observada a altas irradiancias se diluya a nivel de canopeo. De hecho, las reducciones de biomasa a nivel cultivo se debieron principalmente a reducciones en la intercepción y absorción de radiación sin efectos claros sobre la eficiencia de uso de la misma. Los resultados obtenidos demuestran que aspectos tales como el nivel de cobertura foliar, la posición vertical del canopeo afectada por las enfermedades y la arquitectura del cultivo, junto con la cuantificación del nivel de enfermedades deberían ser considerados a la hora de tomar decisiones de control químico y como base para generar modelos de tipo funcionales que apoyen la toma de tales decisiones.

Palabras clave: enfermedades foliares, trigo (*Triticum aestivum* L.), índice de área foliar, intercepción y absorción de radiación, eficiencia de uso de radiación, extinción de luz, fotosíntesis.

A MECHANISTIC APPROACH TO FOLIAR DISEASES IN WHEAT

ABSTRACT

Control decisions regarding foliar diseases in wheat crops are generally based on the use of damage thresholds which are built using empirical functions that relate the level of yield reduction against the level of the disease at particular times within the crop cycle. Such empirical relationships do not consider the effects of diseases on the ecophysiological variables associated with yield, limiting the extrapolation of the damage thresholds to other situations different to those at which they were built. Understanding how diseases interfere with the physiological processes related to biomass and grain production is necessary to estimate with a better precision, and for a wide range of conditions, yield reductions due to foliar diseases. This thesis explored the effects of the main wheat foliar diseases on the physiological attributes related to biomass production and yield in crops grown under field conditions at two different levels: i) at crop level, analyzing leaf area index; radiation interception efficiency, radiation absorption efficiency and radiation use efficiency within others variables; and ii) at leaf level, exploring the effects of diseases on photosynthesis rates and related variables with this trait. Results showed that photosynthesis of green area of diseased leaves was reduced under light saturated conditions although no effects were observed under low irradiance levels, not being different such effects between different nitrogen treatments. Considering that crop leaves are exposed to different irradiance levels due to solar angle changes during the day and due to light extinction within the canopy it is likely that, the reduction of leaf photosynthesis observed at high irradiance levels, can not be evidenced or is attenuated at crop level. Indeed, biomass reductions at crop level due to diseases were associated with reductions in radiation interception and absorption with no clear effects on radiation use efficiency. The results of this thesis demonstrate that traits as leaf area index level, canopy architecture and vertical position of diseases into the canopy are important points that should be considered together with diseases level quantification at the time to make decisions regarding foliar diseases control and should be used as a framework to build functional models that support such decisions.

Key words: foliar diseases, wheat (*Triticum aestivum* L.), leaf area index, radiation interception and absorption, radiation use efficiency, light extinction, photosynthesis.

CAPÍTULO 1

Introducción general: presentación del problema a estudiar y revisión de antecedentes

1.1. Introducción

Las enfermedades foliares constituyen uno de los principales factores que limitan la expresión de los rendimientos del cultivo de trigo (*Triticum aestivum* L.) en todo el mundo (Oerke y Dehne, 1997; Annone et al., 2001; Oerke y Dehne, 2004; Duveiller et al., 2007). En Argentina, se han estimado reducciones en el rendimiento de entre el 6 y el 55% debido a la presencia de mancha amarilla de la hoja causada por el hongo *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechs. [(anamorfo: *Drechslera tritici-repentis*) (Died.) Shoemaker], dependiendo de las condiciones ambientales y los cultivares utilizados y del 40 al 50% en cultivos con infecciones tempranas de roya de la hoja (*Puccinia triticina* Eriks.) (Annone et al., 2001 y citas en este trabajo). Para el norte de la provincia de Buenos Aires en Argentina se han informado reducciones del rendimiento, asociadas con la presencia de enfermedades, del orden del 10 al 40 % para el año 2000 dependiendo del tipo de patógeno presente y los cultivares de trigo utilizados (Annone et al., 2001). Entre los patógenos con mayor impacto sobre la productividad de trigo en la Argentina se destaca el grupo de las enfermedades foliares: septoriosis de la hoja [*Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) Schröter in Cohn (anamorfo *Septoria tritici* Roberge in Desmaz.)], mancha amarilla (*P. tritici-repentis*) y la roya (*Puccinia* sp.) (Carmona, 2001). De todas estas, la que ocasiona mayores daños al cultivo trigo en la gran mayoría de las situaciones de cultivo, es la roya de la hoja (*P. triticina*) (Duveiller et al., 2007), probablemente debido a sus características, intensidades y momentos ontogénicos del cultivo en que ataca y a los daños fisiológicos causados: disminución del área fotosintética, aumento en la tasa de transpiración por ruptura de la epidermis y reducción de la tasa de traslocación de asimilados (McNew, 1960).

Tradicionalmente se utilizan como parámetro de medida de la evolución del daño por enfermedades foliares los índices de incidencia (proporción de plantas u órganos enfermos del total evaluados) y severidad (proporción de área enferma del órgano vegetal en cuestión) (James, 1974; Gaunt, 1995; McRoberts et al., 2003). A partir de dichos índices, es posible la construcción de los llamados umbrales económicos (nivel de enfermedad para el cual el beneficio del tratamiento excede el costo del control químico) que pueden ser utilizados en la toma de decisiones para el control de enfermedades. Estos umbrales se construyen a partir de una ecuación propuesta por Mumford y Norton (1984) para el manejo de nematodos en el cultivo de papa, la cual es adaptada para enfermedades foliares. Para esto, se utilizan funciones empíricas que relacionan la reducción en el rendimiento con el nivel de la enfermedad (severidad y/o incidencia) considerándose además, el precio del grano, el precio del producto fungicida a ser utilizado y la eficiencia de control de dicho fungicida (Carmona et al., 1998; Cortese et al., 1998; Carmona, 2001; Reis et al., 2006; Reis et al., 2007). Sin duda, el aspecto más crítico para la utilización de los umbrales es el grado de predictibilidad de las funciones de reducción del rendimiento sobre la base de la presencia de una determinada enfermedad. Generalmente, las funciones que predicen la reducción en el rendimiento del cultivo a partir de los valores de daño (severidad y/o incidencia) de una determinada enfermedad son lineales y elegidas por tener un buen

ajuste de los datos y no necesariamente por tener algún significado biológico (Madden et al., 1981).

Si bien para un determinado cultivo en un ambiente y/o manejo dados estas funciones podrían explicar de manera razonable la disminución en el rendimiento a partir del grado de intensidad de una enfermedad, el mismo cultivar puesto en un ambiente y/o manejo diferente podría mostrar un grado de reducción en el rendimiento completamente distinto al observado en la situación inicial. Es decir, la extrapolabilidad de esta función a otros genotipos, manejo, años o localidades se torna imprecisa y poco confiable, restringiendo su uso universal (Gaunt, 1995). En este sentido, al analizar la caída en el rendimiento de un cultivo de trigo de invierno en función del nivel de infección de roya amarilla (*Puccinia striiformis*) considerando para esto el área bajo la curva de progreso de la severidad de la enfermedad (ABCPE), Bryson et al. (1997) encontraron correlaciones relativamente débiles siendo estas diferentes según la campaña (año) analizada. Similarmente, los resultados de Simon et al. (2002) para Septoriosis de la hoja y los de Paveley et al. (1997) para Roya amarilla y Septoriosis de la hoja, muestran diferentes funciones de daño entre la reducción de rendimiento de trigo y el ABCPE según el año, la localidad o las condiciones de fertilización nitrogenada considerados. En otros trabajos, no existió asociación significativa entre los niveles de mancha angular de la hoja (*Phaeoisariopsis griseola* Sacc. Ferraris) y el rendimiento de plantas de poroto (*Phaseolus vulgaris*) en diferentes situaciones experimentales (Bergamin Filho et al., 1997; Jesus Junior et al., 2001; Jesus Junior et al., 2003). Numerosos trabajos también muestran por un lado la variabilidad existente en los coeficientes de daño (o parámetros correspondientes de las ecuaciones ajustadas a los datos) y por otro lado la ausencia de correlación para diferentes condiciones de producción exploradas en dichos trabajos (Madden et al., 1981; Thomas et al., 1989; Reis et al., 2006).

De esta manera, si bien el umbral de daño es una herramienta de predicción sencilla y práctica, su capacidad de extrapolación a diferentes situaciones (ambientales, genotípicas y de manejo) es generalmente muy limitada. Por ello, una aproximación funcional comprendiendo como los procesos ecofisiológicos del cultivo involucrados en la generación de biomasa y rendimiento son afectados ante la presencia de enfermedades permitiría disminuir la variabilidad e incrementar el grado de predictibilidad y extrapolabilidad en las estimaciones de reducciones del rendimiento como consecuencia del ataque de enfermedades foliares en el cultivo de trigo (Johnson, 1987; Waggoner y Berger, 1987; Gaunt, 1995).

1.1.1. Variables ecofisiológicas determinantes de la producción de biomasa

El rendimiento del cultivo de trigo depende fuertemente de la tasa de crecimiento (producción de biomasa) lograda durante estepas definidas de su ciclo tal como se explicará más adelante en la sección 1.1.3. A su vez, la producción de biomasa total puede explicarse a partir de: (i) la cantidad de radiación absorbida por el cultivo y (ii) la capacidad del cultivo de convertir dicha radiación en biomasa (Eficiencia de uso de la radiación: EUR) (Gardner et al., 1985; Johnson, 1987) (Figura 1.1). A los efectos de esta tesis se entiende por radiación absorbida a la radiación interceptada por área foliar verde, es decir, descontando de la radiación interceptada por el área foliar total aquella interceptada por área foliar no verde (enferma y/o senescente), tal como lo definen Waggoner y Berger (1987).

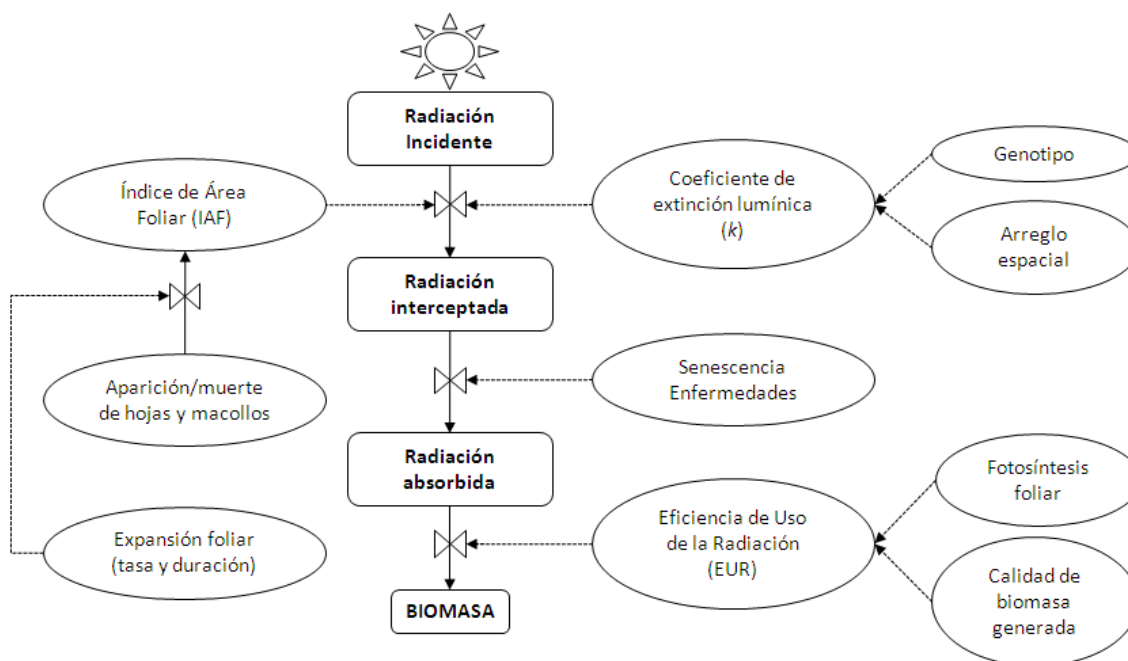


Figura 1.1.: Diagrama teórico de generación de biomasa en el cultivo de trigo considerando el recurso radiación.

La proporción de radiación solar incidente que es interceptada por el cultivo, llamada eficiencia de intercepción de radiación (E_i), depende del índice de área foliar (IAF) y la arquitectura del canopeo, estando esta última asociada al coeficiente de extinción lumínica (k) (Hipps et al., 1983; Monteith y Unsworth, 1990). Así, el coeficiente k define la relación funcional existente entre la E_i y el IAF del cultivo y es dependiente del genotipo y del arreglo espacial (Figura 1.1). Este coeficiente es mayor en canopeos de hojas planófilas que en canopeos de hojas erectófilas. Por su parte, la EUR de un cultivo está muy relacionada con la fotosíntesis foliar y la calidad de la biomasa producida (composición de carbohidratos, lípidos o aceites y proteínas) (Trapani et al., 1992; Andrade, 1995) (Figura 1.1). A su vez, la fotosíntesis foliar está determinada por el contenido de N de las hojas (Evans, 1989; Sinclair y Horie, 1989; Connor et al., 1993), el cual varía con la posición y edad de las mismas (Trapani et al., 1992; Connor et al., 1993; Dreccer et al., 2000), dependiendo además del tipo de metabolismo de fijación de carbono, siendo mayor la EUR de las especies C4 (no presentan fotorrespiración) que de las especies C3. La temperatura, la disponibilidad hídrica, el nivel de radiación (directa y difusa) y el déficit de presión de vapor, entre otros factores ambientales, así como también la arquitectura del cultivo pueden también afectar la tasa de fotosíntesis foliar (Lambers et al., 1998; Loomis y Connor, 2002).

1.1.2. Efecto de las enfermedades foliares sobre las variables ecofisiológicas de determinación de biomasa

Boote et al. (1983) caracterizaron a las adversidades según su efecto sobre el crecimiento de las plantas en siete grupos: (i) consumidores de tejidos, (ii) aceleradores de la senescencia, (iii) reductores de stand, (iv) captores de luz, (v) reductores de la tasa fotosintética, (vi) captores de asimilados y (vii) reductores de turgencia. Los primeros

cuatro grupos representan a los patógenos de mayor efecto sobre la interceptación de radiación, mientras que los tres últimos tienen su mayor impacto sobre la EUR (Johnson, 1987).

Las enfermedades foliares pueden afectar de diferente manera los atributos fisiológicos de generación de biomasa y rendimiento de un cultivo presentados en la Figura 1.1. Por ejemplo, la presencia de enfermedades foliares puede reducir la cantidad de radiación interceptada por el cultivo debido a disminuciones en el índice de área foliar (IAF) a causa de caída de hojas y muerte de tejidos y órganos (i.e. macollos) (Figura 1.2, línea llena). La relación entre el IAF y la capacidad de interceptación del cultivo es del tipo asintótica (Hipps et al., 1983; Monteith y Unsworth, 1990) lo cual sugiere que la reducción de área foliar causada por un patógeno (caída de hojas), producirá un impacto diferente sobre la eficiencia de interceptación de radiación (E_i) dependiendo del nivel de IAF que haya alcanzado el cultivo. Así, existirá un menor efecto sobre la E_i del cultivo cuando éste se encuentre con un IAF cercano al crítico (IAF correspondiente al 95 % de interceptación) o superior, que en aquellas situaciones que presenten bajo IAF (Johnson, 1987; Gaunt, 1995). Paveley et al. (2001), teorizan que la pérdida de una unidad de área foliar tendría menos influencia en la fracción de interceptación de radiación en canopeos densos que en canopeos laxos. De la misma manera, Cornish et al. (1990) citando a Ritchie (1974) especulan que la *Septoria* de la hoja (*M. graminicola*) no afectó la biomasa aérea de trigo a la antesis, a pesar de las importantes reducciones en el área foliar, debido a que el índice de área foliar remanente fue lo suficientemente alto como para lograr plena interceptación.

A su vez, del total de la radiación interceptada por un cultivo enfermo parte de esta será interceptada por área foliar enferma o senescente la cual no tiene actividad fotosintética alguna reduciéndose entonces la radiación que es efectivamente absorbida por área foliar verde y funcional (Figura 1.1 y Figura 1.2, líneas punteadas) y que será utilizada para producir fotoasimilados y finalmente materia seca. En este caso, las enfermedades foliares reducirán el IAF verde y con ello la eficiencia de absorción (E_a) aún cuando el cultivo se encuentre con niveles de IAF total por encima del crítico y lo harán de una manera proporcional al nivel de severidad alcanzado.

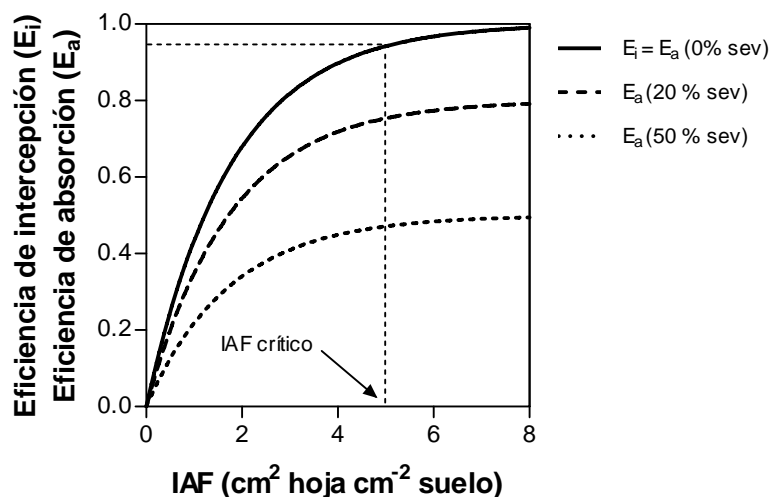


Figura 1.2.: Esquema de la relación entre las eficiencias de intercepción (E_i) y absorción (E_a) y el índice de área foliar (IAF) para cultivos con diferente grado de severidad de enfermedades foliares (0, 20 y 50%). En un cultivo sano (0% severidad) la radiación absorbida es igual a la radiación interceptada. IAF crítico = IAF para el 95 % de intercepción de radiación. El coeficiente de extinción lumínica utilizado para el cálculo fue de 0.57.

Por otro lado, el impacto de las enfermedades sobre la intercepción y absorción de radiación dependerá, además de los efectos sobre el IAF (total y/o verde) *per se*, de su distribución vertical dentro del canopeo ya que no todas las posiciones de hojas tienen la misma relevancia en términos de impacto sobre la intercepción de radiación (Béasse et al., 2000; Robert et al., 2004; Bancal et al., 2007). La contribución de cada estrato foliar (i.e. posición vertical de hoja) a la intercepción de radiación total del cultivo dependerá, además del tamaño de cada hoja, de la arquitectura del canopeo a través del coeficiente de extinción lumínica (k). En este sentido, en canopeos con hojas planófilas (i.e. altos valores de k), las hojas superiores contribuirán en mayor medida (y en menor medida las inferiores) a la intercepción de radiación que en canopeos con hojas más erectas (i.e. bajos valores de k) dado que estos últimos dejan pasar más luz hacia los estratos de hoja inferiores. Del mismo modo, canopeos más cerrados (i.e. alto IAF) dejarán pasar menos luz hacia estratos de hoja inferiores que canopeos más abiertos. Así, la presencia de oídio en los estratos inferiores de un cultivo con bajo IAF resultaría en una mayor reducción en la tasa de asimilación de dióxido de carbono que la que resultaría con el mismo nivel de infección en un cultivo con alto IAF según datos simulados por Rabbinge et al. (1985).

Gooding et al. (2000) sugieren que las hojas superiores del canopeo son de particular importancia en la provisión de asimilados al rendimiento de trigo debido a que: (i) son las últimas en senescer; (ii) tienen un menor nivel de sombreado que las hojas de posiciones inferiores pudiendo así interceptar mayores niveles de radiación; y (iii) están “vascularmente” más cerca de las espigas respecto de otras hojas. Evidencias de la literatura demuestran que gran parte de los carbohidratos de los granos provienen de la hoja bandera (Lupton, 1972). En el mismo sentido, Verreet y Klink (2002), sostienen que las hojas superiores del canopeo son las que más contribuyen al rendimiento del cultivo de trigo. Rabbinge et al. (1985), trabajando con datos simulados para el patosistema trigo-oídio [*Erysiphe graminis* DC. f. sp. tritici Em. Marchal; anamorfo: *Oidium monilioides* (Nees) Link] demostraron que la asimilación bruta de carbono era

menor cuando el oídio estaba uniformemente distribuido en el canopeo o concentrado en las hojas superiores respecto de cuando se concentraba en los estratos inferiores.

Si bien, existen algunos trabajos que tienen en cuenta el estrato foliar (posición vertical) afectado por las enfermedades a la hora de estudiar su efecto sobre la interceptación de radiación del cultivo de trigo (Robert et al., 2004; Bancal et al., 2007) estos no determinan el efecto diferencial de las mismas según se ubiquen en posiciones superiores o inferiores del canopeo y menos aún en cultivos con diferentes niveles de cobertura foliar (IAF) y/o arquitectura de cultivo (coeficiente de extinción lumínica- k).

Además del impacto negativo que las enfermedades pueden tener sobre el área foliar verde y consecuentemente sobre la radiación absorbida (radiación interceptada por área foliar verde), estas podrán afectar también la eficiencia con que las hojas convierten dicha radiación absorbida en fotoasimilados (Figura 1.1) (Gaunt, 1995), a través de reducciones en la tasa de fotosíntesis foliar propiamente dicha o por consumo de los carbohidratos generados por fotosíntesis por parte del patógeno. Sin embargo, el efecto de las enfermedades sobre este atributo fisiológico es contradictorio. Así Waggoner y Berger (1987) en una carta al editor sostienen, mediante un análisis de datos de la literatura, que las enfermedades solo afectarían la absorción de radiación sin existir efectos sobre la EUR, mientras que Johnson (1987) responde a dicha carta argumentando que pueden existir situaciones en las que la EUR también es afectada. Además, Bonhomme (2000) y Sinclair y Muchow (1999) sostienen que la variabilidad en las estimaciones de EUR es pequeña cuando las condiciones para el crecimiento no son limitantes pero, destacan gran la variabilidad existente en las estimaciones de este parámetro ante condiciones ambientales que limitan el crecimiento. Además, los mismos autores, remarcan la precaución que se debería tener para comparar estimaciones de EUR, debiendo considerar la metodología de medición de biomasa y radiación así como el método de cálculo utilizado.

Por un lado, algunos trabajos muestran que la EUR no es afectada en ciertos patosistemas y bajo ciertas condiciones. Así, Bryson et al. (1997) sugieren que, al menos para las condiciones exploradas en sus experimentos, las caídas en el rendimiento del cultivo de trigo por efecto de la presencia de roya amarilla (*P. striiformis*) fueron explicadas en mayor proporción por caídas en la interceptación de radiación y no por disminuciones de la EUR. Tampoco se observaron diferencias en la EUR entre cultivos de trigo sanos y enfermos con roya de la hoja (*P. tritici*) y septoriosis de la hoja (*S. tritici*) (Bancal et al., 2007). Contrariamente, existen otros trabajos que indican efectos negativos de las enfermedades foliares sobre la EUR en otros patosistemas (Johnson, 1987). Por ejemplo, caídas de ca. 20 % observadas en la producción de materia seca en un cultivo de habas (*Vicia faba*), debido a la presencia de *Ascochyta fabae* Speg. (telomorfo: *Didymella fabae* Jellis & Punith), fueron explicadas en mayor proporción por reducciones en la EUR que por cambios en la duración del área foliar (Madeira et al., 1994). En el mismo sentido, Beasse et al. (2000) encontraron que las reducciones en el crecimiento de un cultivo de arvejas (*Pisum sativum*) fueron resultado de disminuciones de la EUR más que de reducciones en la eficiencia de interceptación de radiación ante la presencia de *Mycosphaerella pinodes* (Berk. & A. Bloxam) Vesterg. (anamorfo: *Ascochyta pinodes* L.K. Jones).

Como se comentó anteriormente, los patógenos con mayor efecto sobre la EUR son aquellos que: i) reducen la fotosíntesis; ii) captan los asimilados producidos y/o; iii) reducen la turgencia (Johnson, 1987). En este sentido, Kosugue (1978) destaca que las

enfermedades foliares pueden producir alteraciones en la tasa de asimilación y utilización de carbono a partir de: daños en los sistemas fotoquímicos; alteración de la difusión de CO₂; cambios en los ciclos y reacciones de biosíntesis de compuestos de carbono; alteración en la compartimentalización del aparato fotorrespiratorio; efectos en la asimilación y traslocación de carbohidratos de reserva y energía o; cambios en la tasa respiratoria incluida la fotorrespiración. Con respecto a la tasa de fotosíntesis, los patógenos pueden causar cambios proporcionalmente iguales, mayores o menores cuando son comparados con el nivel visual de severidad de enfermedad, dependiendo el sentido de este cambio del tipo de patógeno y de la especie hospedante (Shtienberg, 1992; Erickson et al., 2003). Cambios proporcionalmente mayores son debidos a efectos negativos del patógeno sobre la fotosíntesis del área foliar verde remanente de hojas enfermas tal como se ha observado en varios trabajos (Rabbinge et al., 1985; Bastiaans, 1991; Goodwin, 1992; Bassanezi et al., 2001; Lopes y Berger, 2001; Bassanezi et al., 2002; Kumudini et al., 2008a), mientras que reducciones proporcionalmente menores se deben a incrementos en la tasa fotosintética del área verde remanente (fotosíntesis compensatoria) o a que parte del área considerada enferma continua realizando fotosíntesis tal como se observó en otros trabajos (Livne, 1964; Mignucci y Boyer, 1979; Murray y Walters, 1992).

Estudios realizados en plantas de trigo enfermas con roya de la hoja (*P. triticina*) han demostrado efectos despreciables o pequeñas reducciones de este patógeno sobre la fotosíntesis del área foliar verde de hojas enfermas (Bastiaans, 1991; Robert et al., 2004; Robert et al., 2005), siendo el principal efecto la reducción en la captura de radiación debido al área foliar enferma. Sin embargo, estos trabajos consideraron solamente la tasa de fotosíntesis neta a saturación lumínica (fotosíntesis máxima = F_{max}). Considerando que, (i) ocurre atenuación lumínica en el canopeo (Dreccer et al., 2000) y (ii) que la radiación incidente en las distintas hojas varía a lo largo del día debido a cambios en el ángulo solar, la mayoría de las hojas del canopeo están expuestas a intensidades de radiación cambiantes durante una importante parte del tiempo. Así, el efecto de las enfermedades sobre la fotosíntesis bajo diferentes niveles de radiación incidente es importante de ser evaluado.

Del mismo modo que con la intensidad de luz la tasa fotosintética varía con el contenido de nitrógeno foliar (Evans, 1989; Sinclair y Horie, 1989; Connor et al., 1993) y debido a ello con la posición y edad foliar (Trapani et al., 1992; Connor et al., 1993; Dreccer et al., 2000). Así, el efecto de los patógenos sobre la fotosíntesis de las hojas podría ser diferente dependiendo del contenido de nitrógeno de las mismas. La información actual relativa al efecto de las enfermedades foliares sobre la fotosíntesis de hojas de trigo con diferentes concentraciones de nitrógeno foliar es extremadamente limitada. En este sentido, Robert et al. (2005; 2006) no encontraron interacción entre el contenido de nitrógeno foliar y las enfermedades foliares (roya de la hoja y *Septoria tritici*) sobre la F_{max} del área verde remanente. Sin embargo, el rango de variación de nitrógeno foliar explorado en dichos estudios no fue lo suficientemente amplio como para originar diferencias significativas en la tasa de fotosíntesis entre tratamientos de nitrógeno.

El nitrógeno es componente de muchas de las moléculas involucradas en el proceso de fotosíntesis (i.e. clorofilas, fotosistemas, cadena de electrones, enzimas involucradas en la fijación de carbono). Por tal motivo, ante un mismo nivel de radiación incidente el aparato fotosintético en su conjunto se encontrará trabajando más cercano a su nivel de saturación en una hoja con baja concentración de nitrógeno que en una con alta concentración. Por consiguiente, sería esperable que la roya de la hoja

(patógeno biotrófico que necesita de células vegetales vivas para prosperar) reduzca la tasa fotosintética del área verde de manera más marcada en hojas que tengan su aparato fotosintético más saturado, es decir, hojas expuestas a altos niveles de radiación y hojas con bajo contenido de nitrógeno foliar.

Por último, las reducciones de la tasa de fotosíntesis neta de las hojas debido a enfermedades foliares puede atribuirse principalmente a: i) incrementos de la tasa de respiración del hospedante (Scholes y Farrar, 1986; Lopes y Berger, 2001; Bassanezi et al., 2002; Kumudini et al., 2008a) o del patógeno (Owera et al., 1981); ii) cambios en la conductancia estomática (Bowden et al., 1990; Hampton et al., 1990; Haverkort et al., 1990; Xiao y Subbarao, 1998; Lopes y Berger, 2001) o: iii) efectos sobre la maquinaria fotosintética *per se* (e.g. enzimas relacionadas con la fijación de CO₂) (Bastiaans, 1993; Lopes y Berger, 2001; Bassanezi et al., 2002; Erickson et al., 2003; Kumudini et al., 2008a). Al presente, y de acuerdo a mi conocimiento, existe solo un trabajo que estudió el efecto de la roya de la hoja de trigo sobre la conductancia estomática y sobre los procesos fotosintéticos *per se* (Bethenod et al., 2001). Sin embargo, en tal estudio las mediciones de intercambio gaseoso fueron realizadas sobre hojas de plantines de trigo crecidos en macetas y dentro de un invernáculo con niveles de radiación muy por debajo de los existentes en condiciones de campo, por lo que no es factible extrapolar dichos resultados a condiciones de cultivo.

1.1.3. Efecto de las enfermedades foliares sobre los componentes del rendimiento (número y peso de granos)

A partir de su efecto sobre la producción de biomasa (tasa de crecimiento) y, dependiendo del momento del ciclo del cultivo en que esto ocurra, las enfermedades foliares pueden afectar el número de granos y/o el peso de grano (Madden y Nutter, 1995). En el cultivo de trigo las variaciones en rendimiento son explicados principalmente por cambios en el número de granos (Fischer, 1985; Miralles et al., 1998; Miralles y Slafer, 1999; Borrás et al., 2004). Este componente se establece durante un breve lapso de tiempo dentro del ciclo del cultivo (período crítico), el cual involucra al activo crecimiento de la espiga y finaliza con el cuaje de los granos (Fischer, 1985). Así, la presencia de enfermedades foliares durante dicho periodo provocará, dependiendo del nivel de reducción del IAF, mermas en el rendimiento debido a reducciones en el número de granos, asociadas a una menor tasa de crecimiento del cultivo, tal como fue demostrado por distintos trabajos de la literatura (Rees et al., 1981; Yang y Zeng, 1989). La importancia de este período respecto del control de enfermedades también queda en evidencia por las frecuentes y consistentes respuestas en rendimiento encontradas por la aplicación de fungidas previo (o alrededor) a la aparición de la hoja bandera (Zadocks 37-39) en lotes de producción de trigo de la Región Pampena Argentina.

Si bien el peso de los granos (el otro componente numérico del rendimiento) explica una menor proporción de los cambios en el rendimiento, una vez fijado el número final de granos (10 días post floración) reducciones en el peso redundarán directamente en una merma en el rendimiento del cultivo. Si bien, algunos trabajos sostienen que, el cultivo de trigo no se encuentra limitado por la disponibilidad de asimilados para llenar los granos (ver trabajos en Borrás et al., 2004), con los niveles de tecnología de producción y los materiales genéticos utilizados hoy en día (que permiten apuntar a altos niveles de rinde) es cada vez más frecuente observar respuesta en peso

de granos por aplicación de fungicidas. De hecho, existen trabajos que demuestran reducciones importantes de peso de grano asociadas a la presencia de enfermedades durante el llenado de granos en situaciones de cultivos de trigo con alto potencial de rinde (Gooding et al., 2000; Serrago et al., 2011). Sin embargo, existe variabilidad en la respuesta en peso de grano cuando se aplican fungicidas durante dicho período (Gooding et al., 1994; Pepler et al., 2006; Serrago et al., 2011) con lo cual se hace importante entender el efecto de las enfermedades foliares sobre las variables ecofisiológicas que determinan la tasa de crecimiento del cultivo durante el llenado de granos.

Finalmente y considerando todo lo expuesto en este capítulo, la complejidad de los efectos causados por las enfermedades foliares sobre los atributos del cultivo que determinan la tasa de crecimiento hace necesario abordar la interacción patógeno-cultivo desde un punto de vista más integrador que involucre las variables ecofisiológicas del mismo. Esto permitirá entender más claramente el impacto de los patógenos sobre los atributos que determinan la tasa de crecimiento y aportar al entendimiento de la relación entre las enfermedades foliares del trigo y la disminución de rendimiento contribuyendo a la toma de decisiones de manejo vinculadas a la aplicación de fungicidas para controlar enfermedades.

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo general:

Estudiar el impacto del complejo de enfermedades foliares presentes en el cultivo de trigo (e.g. roya de la hoja, mancha amarilla y septoriosis de la hoja) sobre los componentes ecofisiológicos de generación de biomasa (i.e. eficiencia de intercepción de radiación, eficiencia de absorción de radiación y eficiencia de uso de la radiación absorbida) durante el período de llenado de granos.

1.2.2. Objetivos específicos:

(i) Analizar el impacto diferencial de las enfermedades foliares sobre la intercepción y absorción de radiación según el estrato foliar del canopeo en el que están presentes;

(ii) Entender la importancia de la distribución vertical de las enfermedades foliares en relación a las E_i y E_a para diferentes niveles de IAF y arquitecturas de canopeo (i.e distintos coeficientes de extinción lumínica);

(iii) Estudiar los efectos de las enfermedades sobre la EUR a través de sus efectos sobre la capacidad fotosintética del tejido verde de hojas enfermas. Considerando que la roya es la principal enfermedad afectando el cultivo de trigo en la mayoría de las situaciones productivas (Annone et al., 2001 y citas en este trabajo; Duveiller et al., 2007), este objetivo fue abordado considerando hojas enfermas solo con este patógeno (*P. tritricina*).

(iv) Estudiar el efecto de la roya de la hoja sobre los parámetros de la fotosíntesis foliar (i.e. F_{\max} , eficiencia de uso de la radiación y tasa respiratoria) y analizar las bases fisiológicas de tales efectos (i.e. conductancia estomática o procesos fotosintéticos *per se*) en hojas de trigo con diferentes niveles de nitrógeno foliar y expuestas a diferentes niveles de radiación.

1.3. Hipótesis

(i) Las enfermedades foliares reducen el IAF del cultivo de trigo por senescencia y caída de hojas y; debido al tipo de relación entre esta variable y la eficiencia de intercepción de radiación, la reducción en la intercepción de radiación es mayor en cultivos con IAF cercanos al crítico o menores a este.

(ii) Las reducciones en la absorción de radiación como consecuencia de la presencia de enfermedades foliares son mayores en aquellas situaciones en que las mismas aparecen en las hojas superiores respecto de aquellas en que aparecen en las hojas inferiores del canopeo, debido al mayor impacto en la absorción de radiación de los estratos superiores.

(iii) En aquellas situaciones en que las enfermedades aparecen en los estratos foliares inferiores del canopeo la reducción en la absorción de radiación como consecuencia de las mismas es mayor en canopeos abiertos (bajo IAF) y/o con hojas más erectas (bajo k) que dejan pasar más luz hacia estratos de hojas basales.

(iv) La presencia de enfermedades foliares no reduce la EUR en el cultivo de trigo.

(v) A nivel de hoja la fotosíntesis del tejido verde remanente de una hoja enferma por roya solo será reducida cuando la misma se encuentre expuesta a altos niveles de radiación incidente (i.e. niveles de saturación lumínica) y en aquellas hojas deficientes en nitrógeno.

Para cumplir con los objetivos planteados se llevaron a cabo distintos experimentos durante los años 2004, 2005 y 2007 en diferentes sitios (Buenos Aires, Argentina y Grignon, Francia). Se utilizaron diferentes tratamientos de control de enfermedades, de fertilización nitrogenada y distintas fechas de siembra. Se midieron variables de respuesta a nivel de cultivo (e.g. IAF y producción de biomasa) y a nivel de hoja (e.g. fotosíntesis y variables relacionadas). La presente tesis se organizó en cinco capítulos. El primer capítulo es introductorio (Introducción) y expone la problemática a abordar y los antecedentes que llevan a la misma, junto con el planteo de los objetivos y las hipótesis. El segundo capítulo (Materiales y Métodos) describe el diseño de los experimentos y los tratamientos llevados a cabo. Las variables de respuestas medidas, análisis realizados y demás puntos específicos de la metodología se indican en cada uno de los capítulos de resultados. Los capítulos 3 y 4 corresponden a resultados obtenidos tanto a nivel de cultivo (Capítulo 3: Cambios en la absorción y eficiencia de uso de radiación en relación con la posición vertical de las enfermedades dentro del canopeo), como a nivel de hoja (Capítulo 4: ¿Cómo la fotosíntesis de la hoja y los procesos relacionados son afectados por la roya de la hoja (*Puccinia triticina*) en un cultivo de trigo creciendo bajo diferentes disponibilidades de nitrógeno?). Cada uno de los capítulos de resultados ha sido estructurado con una breve introducción, una sección de

materiales y métodos, una de resultados y una sección de discusión de dichos resultados. Finalmente, se incluye un capítulo de discusión general en el que se evalúan las hipótesis planteadas, se discuten los resultados integralmente y se exponen las conclusiones finales (Capítulo 5: Discusión).

CAPÍTULO 2

Materiales y métodos generales

2.1. Condiciones generales

Los resultados de la presente tesis se obtuvieron a partir de la conducción de 5 experimentos en condiciones de campo durante 3 años (2004, 2005 y 2007) y en 2 sitios diferentes (Buenos Aires, Argentina y Grignon, Francia). Para cumplir con los objetivos (i) y (ii) se condujeron experimentos en el campo experimental del Departamento de Producción Vegetal de la Universidad de Buenos Aires (Buenos Aires, Argentina, 34°35'S, 58°29'O) durante los años 2004, 2005 y 2007. Por otro lado para responder a los objetivos (iii) y (iv) se utilizaron los experimentos de los años 2005 y 2007 conducidos en Buenos Aires adicionándose dos experimentos realizados en la Estación experimental INRA-EGC de Grignon (Grignon, Francia; 48°50'N; 1°57'E) durante la estación de crecimiento 2004/05.

En los experimentos de Buenos Aires con el objetivo de explorar un amplio rango de niveles de cobertura foliar (IAF) y diferentes condiciones ambientales se utilizaron diferentes fechas de siembra y disponibilidades de nitrógeno (fertilización). El material utilizado en estos experimentos fue Klein Pegaso (muy susceptible a roya de la hoja) sembrado a una densidad de 400 semillas m². La siembra se realizó el 29 de Junio de 2004 (experimento 2004BA), el 3 de Agosto de 2005 (experimento 2005BA) y el 24 de Julio de 2007 (experimento 2007BA) en parcelas de 10 surcos con 0.15 m de distanciamiento y 2.8 m de largo en 2004 y 2005 y 2.1 m de largo en 2007.

En los experimentos llevados a cabo en INRA Grignon, Francia, se sembró el cultivar de trigo Soissons (uno de los cultivares comerciales más utilizado en Francia), el cual es susceptible a roya de la hoja, en dos fechas diferentes (experimentos 2005G1 y 2005G2). En el experimento 2005G1, el día 22 de Octubre de 2004 (i.e. alrededor de la fecha óptima de siembra para el sitio del experimento, Grignon), se sembraron grandes parcelas de 30 m de largo con 9 hileras espaciadas a 0.15 m a una densidad de 250 plantas m⁻². En el experimento 2005G2 se utilizaron plántulas previamente vernalizadas, la que fueron colocadas en parcelas de 1 m de largo con 10 hileras espaciadas a 0.10 m (50 plántulas por hilera). La fecha de plantación de las plántulas vernalizadas fue el día 15 de Marzo de 2005. Para cubrir los requerimientos de vernalización, las semillas fueron germinadas durante 24 h en algodón humedecido y luego se sembraron en macetitas de Jiffy rellenas con turba donde permanecieron por 8 semanas bajo un período de luz de 16 h (350 $\mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) a 8.8 °C y un período de oscuridad de 8 h a 0 °C.

Las parcelas de los experimentos, 2004BA, 2005BA, 2007BA y 2005G2 fueron regadas periódicamente para asegurar una adecuada disponibilidad hídrica a lo largo de todo el ciclo del cultivo. El experimento 2005G1 fue conducido en condiciones de secano durante la mayor parte del ciclo aunque las parcelas se regaron la noche previa a la fecha en que se tomaron las mediciones con el objetivo de evitar que las plantas se encuentren hídricamente estresadas. En todos los experimentos se aplicaron herbicidas e insecticidas cada vez que fue necesario para controlar malezas o plagas.

2.2. Tratamientos y diseño experimental

Los tratamientos consistieron en una combinación factorial de dos niveles de disponibilidad nitrogenada contrastantes (baja y alta) y dos niveles de enfermedad (protegido = sano y no protegido = enfermo). En los experimentos de Buenos Aires (2004BA, 2005BA y 2007BA) los tratamientos se distribuyeron dentro de un diseño en bloques completamente aleatorizado en parcelas divididas con tres bloques (repeticiones) donde las parcelas principales correspondieron al tratamiento de nitrógeno y las sub-parcelas al tratamiento de enfermedad. En Grignon (2005G1 y 2005G2) los tratamientos se arreglaron en un diseño completamente aleatorizado con tres repeticiones por tratamiento.

2.2.1. Tratamientos de nitrógeno

En todos los experimentos se utilizaron dos niveles contrastantes de nitrógeno: baja (N0) y alta (N1) disponibilidad. En los experimentos conducidos en Buenos Aires, la baja disponibilidad correspondió al contenido de nitrógeno en suelo al momento de la siembra, el cual fue de 28, 13 y 50 kg N ha⁻¹ (en los 0.60 m superiores del suelo) en 2004, 2005 y 2007, respectivamente; mientras que en el tratamiento de alta disponibilidad el contenido de nitrógeno en el suelo a la siembra fue llevado a 180 kg N ha⁻¹ (i.e. contenido de nitrógeno del suelo mas el nitrógeno agregado con el fertilizante) en el experimento de 2004, incrementándose a 300 kg N ha⁻¹ en los años 2005 y 2007 con el fin de ampliar la diferencia con el tratamiento N0. En Grignon la disponibilidad de nitrógeno a la siembra (15 kg N ha⁻¹ en los primeros 60 del suelo + N del fertilizante) fue de 80 y 100 kg N ha⁻¹ a la siembra para el tratamiento N0 en los experimentos 2005G1 y 2005G2, respectivamente; y de 300 kg N ha⁻¹ para el tratamiento N1 de ambos experimentos.

Es importante remarcar que los tratamientos de nitrógeno de los experimentos de Argentina no tuvieron como objetivo evaluar los efectos de este nutriente sobre las variables evaluadas a nivel de cultivo en el Capítulo 3 (intercepción y absorción de radiación, eficiencia de uso de radiación, etc). Solo se pretendió explorar el efecto de las enfermedades sobre tales variables para niveles contrastantes de cobertura foliar (IAF) y para lograr tal diferencia en los niveles de IAF se utilizaron los tratamientos de nitrógeno.

2.2.2. Tratamientos de enfermedades

Se utilizaron dos niveles de control de enfermedad, i.e. protegido (P, con aplicación de fungicidas) y no protegido (NP, sin aplicación de fungicidas). Las parcelas protegidas consistieron en mantener al cultivo libre de enfermedades durante todo el ciclo a través de aplicaciones sistemáticas (cada 15 días) de epoxiconazol (Opus ® Basf) a una dosis de 1000 cm³ ha⁻¹ y tebuconazole (Folicur ® Bayer SA) a una dosis de 750 cm³ ha⁻¹ en Grignon y Buenos Aires, respectivamente.

En los experimentos de Buenos Aires el desarrollo de enfermedades en las parcelas del tratamiento NP se promovió con diferentes fuentes de inóculo (patógenos) con el objetivo de generar un “complejo de enfermedades” constituido por diferentes proporciones de cada patógeno (bio y necrotróficos). Así, en los experimentos de los

años 2004 y 2005 se desparramó sobre todas las parcelas (tratamiento P inclusive) al momento de la siembra rastrojo de trigo, recolectado de cultivos de la campaña anterior los cuales habían sido atacados por patógenos necrotróficos (principalmente *D. tritici repentis*-mancha amarilla). No se aplicó rastrojo infectado en el experimento de 2007 con el propósito de evitar el desarrollo de patógenos necrotróficos y favorecer la aparición de roya de la hoja en los estratos foliares superiores. Las parcelas correspondientes al tratamiento NP fueron inoculadas con esporas de *P. triticina* (roya de la hoja) alrededor de inicios de encañazón en los años 2004 y 2005; repitiéndose la inoculación hacia mediados de encañazón en el experimento del año 2005 (debido a que la primera aplicación no tuvo éxito); mientras que en el año 2007 las esporas de roya se aplicaron al momento de la emergencia de la hoja bandera. La inoculación se realizó mediante la aplicación, con pulverizador de mano, de las esporas de roya sobre las parcelas usando agua con unas pocas gotas de surfactante (Tween 20®) como vehículo. Para preparar la suspensión se utilizó una raza de roya específica para el cultivar Klein Pegaso provista por el Ing. Agr. Francisco Sacco del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Castelar, Argentina.

En Grignon las parcelas del tratamiento NP del experimento 2005G2 fueron inoculadas aplicando sobre ellas una suspensión de esporas de roya de la hoja (*P. triticina*) mediante un pulverizador de mano. Las inoculaciones se realizaron con esporas de la cepa B9384-1C1 (con aceite como soporte líquido) diez días antes de la emergencia de la hoja bandera y al momento de espigazón. Las esporas fueron previamente multiplicadas en plantines del cultivar susceptible Michigan. En el experimento 2005G1 no se realizaron inoculaciones y las hojas se infectaron de manera natural.

Con el objetivo de mantener la humedad foliar y con ello promover la infección de las hojas por el patógeno, en el experimento 2004BA se realizaron riegos por aspersión al atardecer justo antes de realizar la inoculación, manteniéndose la misma metodología para los 3 días subsiguientes. Debido a que las condiciones de humedad generadas mediante esta metodología no resultaron tan exitosas como se esperaba (en términos de infección), en el resto de los experimentos se utilizó otra metodología para promover el desarrollo de las enfermedades. Así, luego de la inoculación con esporas de roya a última hora de la tarde, todas las parcelas (inclusive las parcelas control) fueron cubiertas con túneles de polietileno transparente por esa noche y las tres noches subsiguientes para incrementar la humedad y mojado foliar con el objetivo de promover la infección de las hojas por el patógeno. Esta metodología finalmente resultó ser más efectiva para promover la infección con roya que el mojado superficial del canopeo mediante regadores.

CAPÍTULO 3

Cambios en la absorción y eficiencia de uso de radiación en relación con la posición vertical de las enfermedades dentro del canopeo ¹

3.1. Introducción

Las enfermedades foliares son uno de los principales factores reductores de rendimiento del cultivo de trigo (*Triticum aestivum* L.) de la Región Pampeana Argentina (Annone et al., 2001) y en otras regiones del mundo (Oerke y Dehne, 1997; Oerke y Dehne, 2004; Duveiller et al., 2007), originando pérdidas de hasta un 50%. Las principales enfermedades que afectan a este cultivo son la roya de la hoja causada por el patógeno biotrófico *Puccinia tritica*, así como un conjunto de enfermedades foliares causadas por patógenos necrotróficos. Entre estas últimas, la mancha amarilla (*Drechslera tritici-repentis*) se ha incrementado en América del sur durante los últimos años debido a la composición varietal utilizada y a la expansión de la siembra directa, convirtiéndose en una de las manchas foliares que más daño ocasiona (Duveiller et al., 2005). Esta mancha foliar se encuentra generalmente asociada a otras manchas como por ejemplo a la causada por el patógeno *Bipolaris sorokiniana* formando el complejo denominado Helminthosporium (Duveiller et al., 2005), así como a otras manchas causadas por *Septoria tritici* y *Stagonospora nodorum* (Wiik, 2009). El nivel de daño causado por estas manchas foliares es generalmente registrado para el conjunto de ellas debido a que la similitud de sus síntomas dificulta su separación.

El manejo de enfermedades y la toma de decisiones respecto de su control químico en la Región Pampeana Argentina se lleva a cabo mediante la utilización de los llamados umbrales económicos (nivel de enfermedad para el cual el beneficio del tratamiento excede el costo del control químico). Estos umbrales se construyen a partir de funciones empíricas con datos de campo que relacionan el nivel de reducción de rendimiento con el nivel de enfermedad (severidad o incidencia) del cultivo en un momento dado. Así, al utilizar esta herramienta a la hora de decidir la aplicación de un fungicida, no se está considerando al cultivo propiamente dicho lo cual podría llevar a tomar una decisión errónea dado que el impacto de una enfermedad puede ser muy diferente según la etapa ontogénica y condición en que se encuentre el cultivo (e.g. nivel de cobertura foliar, momento del ciclo, etc.). Por consiguiente, comprender cómo las enfermedades foliares afectan los principales atributos del cultivo que determinan la tasa de crecimiento del mismo permitiría mejorar la toma de decisiones respecto del control de enfermedades foliares en el cultivo de trigo (Johnson, 1987; Waggoner y Berger, 1987; Gaunt, 1995).

Tal como fuera mencionado en el capítulo introductorio, la producción de biomasa del cultivo de trigo puede explicarse a partir de: (i) la cantidad de radiación absorbida (interceptada por área verde) y (ii) la eficiencia con que dicha radiación se convierte en materia seca (EUR) (Gardner et al., 1985; Johnson, 1987). A su vez la captura de radiación depende de la eficiencia con que se intercepta la radiación solar

¹ Los resultados de este capítulo fueron publicados en: Carretero, R.; Serrago R. A.; Bancal, M. O.; Perelló, A. E. and Miralles, D. J. 2010. Absorbed radiation and radiation use efficiency as affected by foliar diseases in relation to their vertical position into the canopy in wheat. Field Crops Research. 116: 184-195.

que incide sobre el cultivo (E_i). La E_i ha sido ampliamente relacionada con el nivel de cobertura foliar (Índice de área foliar, IAF) mediante el coeficiente de extinción lumínica (k) (Hipps et al., 1983; Monteith y Unsworth, 1990), el cual depende de la arquitectura del cultivo (ángulo de inserción de las hojas y altura de planta, principalmente (Miralles y Slafer, 1997)). Esta relación determina un valor de IAF a partir del cual se alcanza el máximo nivel de intercepción de radiación denominado IAF crítico.

Las enfermedades foliares pueden afectar tanto la E_i (Waggoner y Berger, 1987) debido a reducciones del IAF por debajo de su nivel crítico como también pueden reducir la EUR (Johnson, 1987). Pero además, parte de la radiación es interceptada por porciones afectadas de las hojas en un cultivo enfermo, las cuales no son funcionales, reduciendo así la eficiencia de absorción de radiación (E_a). Por lo tanto, la radiación absorbida por el cultivo podría ser reducida de manera directa debido a: (i) disminuciones del IAF verde (IAFv) ya formado a través de lesiones o también debido reducciones de la intercepción por disminuciones del IAF total por senescencia acelerada (Boote et al., 1983) y caída de hojas o; (ii) reduciendo la formación de área foliar a través de reducciones del macollaje o crecimiento foliar. En estudios previos se observó que la roya de la hoja del trigo y la septoriosis de la hoja (*Septoria tritici*) no interaccionan (Robert et al., 2004) siendo suficiente conocer la reducción del IAFv debido a ambas enfermedades para simular sus daños tanto a nivel foliar (Robert et al., 2005; Robert et al., 2006) como a nivel de cultivo (Bancal et al., 2007). Además, Bhathal et al. (2003) demostraron que tanto la mancha amarilla como la mancha foliar causada por *Septoria nodorum* causan similares daños en términos de rendimiento, permitiendo entonces su evaluación en conjunto.

Los efectos negativos de las enfermedades foliares sobre la radiación interceptada no solo dependen de su impacto en el IAF o el IAFv *per se* sino que también dependen de la posición vertical del canopeo donde aparecen las enfermedades (Béasse et al., 2000; Robert et al., 2004; Bancal et al., 2007), considerando que la luz se extingue en el canopeo y que por consiguiente la mayor cantidad de radiación es interceptada por los estratos superiores. En este sentido, Robert et al. (2004) trabajando con datos simulados para un cultivo de trigo sugirieron que la fotosíntesis de las hojas superiores (i.e. hoja bandera) contribuyó con ca. 45% del total de la fotosíntesis del canopeo, un 20% correspondió a las hojas inmediatamente por debajo mientras que la fotosíntesis restante provenía de las hojas inferiores. Aunque el rol de las hojas superiores en el canopeo es importante para interceptar radiación, la importancia de las hojas inferiores para la intercepción de radiación puede variar dependiendo de: (i) la cobertura del canopeo (IAF) y (ii) el coeficiente de extinción lumínica (k) el cual como se mencionó anteriormente es dependiente de la arquitectura del cultivo, principalmente del ángulo de inserción de las hojas y altura de planta, y por ello del cultivar (Miralles y Slafer, 1997). Es así que, es crucial entender los daños causados por la roya de la hoja y los patógenos necrotróficos, dado que, por un lado la roya de la hoja se dispersa por medio del viento (Eversmeyer et al., 1973; Eversmeyer y Kramer, 1992) afectando por tal motivo a las hojas superiores del cultivo en mayor medida, mientras que por el otro la esporas de los patógenos necrotróficos se dispersan principalmente desde el rastrojo en la superficie del suelo hacia las hojas inferiores y luego de estas a las superiores (Duveiller et al., 2005).

Así, el efecto de las enfermedades foliares sobre el cultivo de trigo puede determinarse de manera más precisa si junto con los niveles de patógenos presentes en

el cultivo (severidad y/o senescencia) se consideran las variables ecofisiológicas determinantes de la generación de biomasa y rendimiento. En este sentido, numerosos trabajos han estudiado el efecto de los patógenos foliares en diferentes cultivos sobre dichas variables (Johnson, 1987; Waggoner y Berger, 1987; Cornish et al., 1990; McGrath y Pennypacker, 1990; Johnson, 1992; Bastiaans y Kropff, 1993; Madeira et al., 1994; Bergamin Filho et al., 1997; Bryson et al., 1997; Béasse et al., 2000; Jesus Junior et al., 2001; Jesus Junior et al., 2003; Robert et al., 2004; Bancal et al., 2007; Kumudini et al., 2008b; Serrago et al., 2009), sin embargo, ninguno de ellos analizó la distribución vertical de las enfermedades en los estratos foliares del cultivo en relación con el tamaño del canopeo (IAF) y la arquitectura del mismo (coeficiente de extinción lumínica, k).

En este capítulo se analizan los efectos de las enfermedades foliares en la interceptación y absorción de radiación y en la eficiencia de uso de la radiación absorbida considerando los estratos foliares separadamente. Se discuten las ventajas y problemas de considerar una aproximación de cultivo (sin distinguir estratos foliares) vs una aproximación que considere los estratos foliares por separado a la hora de analizar el impacto de las enfermedades en los principales componentes fisiológicos determinantes de la producción de biomasa aérea del cultivo. Los objetivos planteados son: (i) entender la importancia de la distribución vertical de las enfermedades foliares en relación a la Ea para diferentes niveles de IAF y arquitecturas de canopeo y (ii) analizar y comparar dos métodos de estimación de absorción de radiación considerando: (a) el IAF total del canopeo o (b) el IAF de cada estrato foliar separadamente. Ambos objetivos fueron llevados a cabo en un amplio rango de condiciones ambientales y situaciones de enfermedad, similares a las exploradas por los productores en sus lotes de producción.

3.2. Materiales y métodos

3.2.1. Diseño experimental y tratamientos

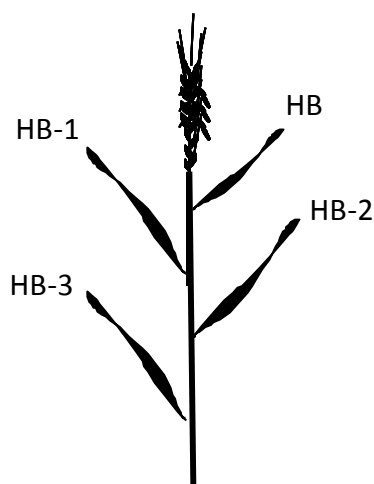
Se llevaron a cabo 3 experimentos en el campo experimental del Departamento de Producción Vegetal de la Universidad de Buenos Aires (Buenos Aires, Argentina, 34°35'S, 58°29'O) durante los años 2004, 2005 y 2007. Con el objetivo de explorar un amplio rango de niveles de cobertura foliar (IAF) y de explorar diferentes condiciones ambientales se utilizaron distintas fechas de siembra y disponibilidades de nitrógeno (fertilización). Los tratamientos consistieron en una combinación factorial de dos niveles de disponibilidad de nitrógeno contrastantes (baja y alta) y dos niveles de enfermedades (protegido y no protegido). Los detalles de los tratamientos y el diseño experimental fueron descriptos en el Capítulo 2 (Materiales y métodos).

3.2.2. Mediciones y cálculos

Desde antesis a madurez fisiológica, se recolectaron muestras de biomasa aérea de cada parcela, al azar y en forma periódica (i.e. cada una o dos semanas). El tamaño de las muestras recolectadas fue de 0.3 a 0.5 m lineales, siendo las muestras correspondientes a los estadios de antesis y madurez fisiológica de 1 m de largo. Cada muestra fue secada en estufa a 60 °C hasta alcanzar peso constante. Previo a ser secadas,

se tomó una sub-muestra de entre 3 y 4 plantas de cada muestra para medir la severidad de enfermedades foliares, y los índices de área foliar total (IAF), verde (IAFv) y no verde (IAFnv).

Estas sub-muestras fueron separadas en tallos principales y macollos y luego las láminas foliares fueron agrupadas de acuerdo con su posición vertical en el tallo (ver esquema 3.1). Aquellas láminas foliares conteniendo al menos una porción de tejido verde fueron pegadas en hojas de papel blanco y digitalizadas con un escáner a 300 ppp (punto por pulgada). Estas imágenes se utilizaron para determinar el área foliar total, verde y no verde de las hojas de diferentes estratos foliares verticales mediante el uso de Assess (Lamari, 2002) un programa de computación para el análisis de imágenes. Luego de escaneadas, las sub-muestras (hojas y tallos) fueron secadas en estufa hasta alcanzar peso constante para poder referir las mediciones de área realizadas en ellas a la muestra principal. Con ello, los valores de IAF, IAFv e IAFnv fueron calculadas como m^2 de hoja por m^2 de suelo. Es importante hacer notar que todas aquellas hojas totalmente senescidas (HTS), i.e. hojas muertas, no fueron escaneadas y por lo tanto no fueron incluidas en los cálculos de IAF. Estas HTS no fueron entonces incluidas en las estimaciones de Ei y Ea (ver más adelante). La muestra recolectada en antesis fue utilizada para determinar el contenido de nitrógeno foliar de las hojas bandera usando el método de Kjeldahl (Lang, 2002), luego de realizadas todas las mediciones correspondientes.



Esquema 3.1: Esquema de tallo de trigo mostrando la agrupación vertical de los estratos foliares.

HB: hoja bandera

Se realizaron estimaciones visuales de severidad (porcentaje de área enferma) en todas las hojas de vástagos principales utilizadas para el análisis de imágenes. La severidad de roya de la hoja (patógeno biotrófico) fue medida como porcentaje de área cubierto solo con esporas (debido a que no fue posible separar la clorosis y necrosis causada por este patógeno de aquella causada por procesos naturales) y la enfermedad causada por patógenos necrotróficos (en conjunto) fue registrada como porcentaje de área cubierto con área sintomática (clorosis y necrosis debida a patógenos necrotróficos). La prevalencia de los diferentes patógenos necrotróficos fue estimada mediante la incubación de porciones de hojas con áreas necróticas recolectadas aleatoriamente desde las sub-muestras. Estas porciones necróticas fueron incubadas bajo

condiciones que permitieron el desarrollo y esporulación fúngica y luego se determinó sobre ellas la presencia de los diferentes patógenos utilizando lupas de aumento. La prevalencia de los diferentes patógenos fue calculada para cada parcela como el porcentaje de porciones con presencia de cada patógeno en el total de porciones incubadas. Estas evaluaciones fueron realizadas a mediados de la etapa de llenado de grano solo en los experimentos de los años 2004 y 2005 debido a que no se detectaron niveles importantes de severidad de patógenos necrotróficos en el experimento del año 2007.

La intercepción de radiación fue medida regularmente entre espigazón y antesis con un ceptómetro lineal (LI-191 S, LI-COR Inc., Lincoln, NE, USA) en los experimentos de 2004 y 2005. Dichas mediciones se realizaron en los surcos centrales de cada parcela determinando la radiación incidente (I_0) inmediatamente encima del canopeo y la radiación transmitida (I_t) a la base del cultivo (superficie del suelo) ubicando el sensor en tres posiciones a lo largo del entre-surco (izquierda, centro, derecha) utilizando para los cálculos correspondientes el promedio de estas tres mediciones. La E_i fue calculada como la diferencia entre la radiación incidente y la transmitida, sobre la radiación incidente ($E_i = [I_0 - I_t]/I_0$). Dado que otros investigadores (e.g. Thorne et al., 1988) no encontraron diferencias significativas entre la E_i calculada con mediciones instantáneas realizadas al mediodía o con mediciones integradas a lo largo de todo el día, las mediciones fueron tomadas en días claros desde una hora antes hasta una hora después del mediodía.

Se utilizó una aproximación de la ley de Beer–Bourguer–Lambert (Hipps et al., 1983) para estimar la E_i y la E_a a partir de mediciones de IAF realizadas en las muestras de biomasa aérea tomadas a lo largo del período de llenado de granos:

$$E_i = a(1 - \exp^{-k \text{ IAF}}) \quad (\text{Ecuación 3.1})$$

donde a es el máximo valor de intercepción de radiación que puede ser alcanzado por el cultivo y k es el coeficiente de extinción lumínica. Los valores de los parámetros a y k fueron estimados ajustando la Ecuación 3.1 a los datos de IAF y E_i medidos entre los estadios de espigazón y antesis. Debido a que no se observaron diferencias significativas para dichos parámetros entre los tratamientos de nitrógeno y enfermedades (fungicidas) (ver Figura 3.3 en la sección de Resultados), el conjunto completo de datos fue utilizado para obtener un único valor de k y un único valor de a . Dado que diferentes trabajos de la literatura muestran que desde antesis en adelante la arquitectura de la planta permanece relativamente constante no observándose cambios en la distribución de luz en el canopeo (Bertheloot et al., 2008) ni en el valor del coeficiente k (Thorne et al., 1988) el valor de k calculado entre espigazón y antesis fue utilizado para estimar la E_i a partir de mediciones de IAF durante el período de llenado de granos para los diferentes años y tratamientos.

Se utilizaron dos modelos para la estimación de la E_a : (i) el modelo de estrato foliar (E_{aL}) y (ii) el modelo de canopeo (E_{aC}). El modelo de estrato foliar considera la distribución diferencial de enfermedades entre los distintos estratos foliares del canopeo y estima la E_{aL} para cada estrato i como:

$$E_{aLi} = [\exp^{-k \text{ IAF}_j}] [a(1 - \exp^{-k \text{ IAF}_i})] [\text{IAFv}_i/\text{IAF}_i] \quad (\text{Ecuación 3.2})$$

donde IAF_i y IAFv_i representan los índices de área foliar total y verde, respectivamente, del estrato foliar i y; IAF_j es el índice de área foliar total por sobre el

estrato foliar i . La Ea_L para todo el canopeo resulta de la suma de las Ea_{Li} calculadas para cada estrato i .

Por otro lado, el modelo de canopeo considera una distribución uniforme de las enfermedades entre los estratos foliares y estima Ea_C para todo el canopeo como:

$$Ea_C = [a(1 - \exp^{-k IAF})] [IAFv/IAF] \quad (\text{Ecuación 3.3})$$

Las Ei , Ea_L y Ea_C para los días entre fechas sucesivas de muestreo fueron obtenidas por interpolación lineal. Con el cálculo diario de estas eficiencias y la radiación fotosintéticamente activa incidente diaria (RFA) obtenida de una estación meteorológica situada en el lugar de los experimentos, se calculó la cantidad de RFA diaria interceptada (para Ei) y absorbida (para Ea_L y Ea_C). Luego, mediante la suma de estos valores diarios se calculó la RFA interceptada acumulada ($RFAi$) y la RFA absorbida acumulada ($RFAa_L$ y $RFAa_C$) para todo el período de llenado de granos (i.e. desde el estado de antesis hasta madurez fisiológica).

La eficiencia de uso de la radiación (EUR) para el período de llenado de granos fue estimada como la pendiente de la relación entre la biomasa aérea acumulada luego de antesis y la $RFAa_L$ (EUR_L) por un lado y la $RFAa_C$ (EUR_C) por otro, para cada uno de los tratamientos. Para estas regresiones se utilizaron los datos de todas las fechas de muestreo realizadas desde el momento de antesis.

3.2.3. Análisis estadístico

Las diferencias estadísticas entre tratamientos fueron testeadas a través de un análisis de varianza. Cada vez que el análisis de varianza detectó diferencias significativas para las variables analizadas, las medias de los tratamientos fueron comparadas utilizando el test de Tukey con un nivel de significancia de 0.05. Para dichos análisis se utilizó el programa informático de análisis estadístico INFOSTAT Professional v.1.1 (Di Rienzo y Robledo, 2002). Para las variables graficadas en relación al tiempo térmico ($^{\circ}\text{Cd}^{-1}$) acumulado desde antesis (severidad, IAF, IAFv, Ei y Ea) se incluye en el gráfico el error estándar de la media correspondiente a cada punto. Se consideró una temperatura base de 0°C para el cálculo del tiempo térmico desde antesis.

3.2.4. Análisis de sensibilidad de Ei y Ea_L debido a variaciones en el coeficiente de extinción lumínica (k) y a diferentes distribuciones de las enfermedades entre los estratos foliares del canopeo

Considerando que el coeficiente de extinción lumínica (k) puede variar con el genotipo, el estado de desarrollo del cultivo y/o las condiciones de crecimiento (Thorne et al., 1988), se realizó un análisis de sensibilidad de Ei y Ea_L para diferentes valores de k . Es importante remarcar, como se indicó anteriormente, que para el conjunto de datos utilizados en el presente estudio los valores de k obtenidos no fueron estadísticamente diferentes entre tratamientos de nitrógeno o enfermedades. Para este análisis se realizaron, nuevas estimaciones de Ei y Ea_L (utilizando las ecuaciones 3.1 y 3.2) con los datos de IAF registrados al momento de alcanzar máximo IAF en el tratamiento NP correspondiente al experimento del año 2005. Los valores de k testeados fueron: (i) el

perteneciente al cultivar utilizado en el presente estudio, i.e. $k = 0.60$; y (ii) otros dos valores correspondientes a un 25% superior e inferior a 0.60, i.e. 0.75 y 0.45, respectivamente, abarcando el rango de valores de k de trigo encontrado en la literatura (e.g. Abbate et al., 1998 y citas del mismo). Se consideró el valor de a correspondiente al cultivar evaluado, i.e., $a = 0.91$. El valor de severidad utilizado para estos cálculos (12.8%) fue el correspondiente al valor de severidad total (considerando el área foliar no verde como área enferma) registrado durante el experimento de 2005 para el tratamiento N1 al momento de alcanzar máximo IAF y estimado como el promedio de las tres hojas superiores (ponderado por el tamaño de cada hoja).

Adicionalmente, con el propósito de entender como las pérdidas en absorción de radiación (PRA), debido a intercepción de radiación por área foliar enferma, puede variar debido a diferentes distribuciones de las enfermedades entre los estratos foliares en canopeos con diferentes valores de k y niveles de IAF, tres distribuciones hipotéticas de enfermedades fueron consideradas: (i) enfermedad concentrada en la hoja bandera (HB); (ii) enfermedad concentrada en la tercera hoja desde la parte superior (HB-2) y; (iii) enfermedad distribuida uniformemente entre los tres estratos de hojas superiores. Es importante resaltar que en cada una de las tres situaciones el valor medio de severidad de la planta fue 12.8% (valor citado arriba) de modo de poder comprar los distintas distribuciones de la enfermedad ante iguales niveles de daño foliar. Por consiguiente, cuando las enfermedades fueron uniformemente distribuidas, cada uno de los estratos foliares tuvo un valor de severidad de 12.8%. Sin embargo, cuando se consideró a las enfermedades concentradas en un solo estrato foliar (e.g. hoja bandera) este estrato foliar tuvo una severidad de 38.4% y los dos restantes 0%, siendo el promedio para los tres estratos de 12.8%. Por otro lado, se utilizaron dos niveles contrastantes de IAF: (i) el IAF máximo del tratamiento N1 del año 2005 (i.e. 6.3) y; (ii) el IAF máximo del tratamiento N0 del mismo año (i.e. 3.1). Para todos los valores combinados de k , IAF y distribución vertical de enfermedades se calculó: (i) la E_i para cada estrato y para el canopeo y (ii) la E_{aL} para el canopeo utilizando las ecuaciones 3.1 y 3.2, respectivamente. Con los cálculos de E_i y E_{aL} para el canopeo se calculó el porcentaje de la radiación interceptada por el cultivo que se pierde por ser interceptada por área foliar no verde ($PRA =$ Pérdida de absorción de radiación) de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$PRA (\%) = [(E_i - E_{aL}) / E_i] \times 100 \quad (\text{Ecuación 3.4})$$

3.3. Resultados

3.3.1. Evolución de enfermedades

En todos los experimentos las enfermedades comenzaron a aparecer en los tres estratos superiores del canopeo principalmente desde antesis en adelante (Figura 3.1). Los niveles y proporciones de los diferentes tipos de patógenos (biotróficos y necrotróficos) dentro del “complejo de enfermedades” varió entre los años y tratamientos de nitrógeno. En el experimento del año 2004 la severidad de enfermedades causadas por patógenos necrotróficos alcanzó valores de entre 4 y 18%, siendo mayor en los estratos foliares inferiores; mientras que los síntomas de roya de la hoja (biotrófico) se mantuvieron con severidades por debajo de 2.5%. Contrariamente en el año 2007, la enfermedad predominante fue la roya de la hoja alcanzando valores de severidad en la hoja bandera de ca. 4 y 5% en los tratamientos N0 y N1,

respectivamente; mientras que la severidad causada por necrotróficos no superó nunca el 2.5%. Por último, en los experimentos del año 2005 la composición del “complejo de enfermedades” fue diferente según el tratamiento de N considerado. Por un lado, bajo condiciones de alta disponibilidad nitrogenada (N1) la enfermedad predominante fue roya de la hoja alcanzando valores de severidad superiores a 12.5%, no registrándose síntomas de enfermedades causados por patógenos necrotróficos. Por el otro lado, bajo condiciones de baja disponibilidad de N (N0) los patógenos necrotróficos predominaron en el “complejo de enfermedades” alcanzando valores de severidad de hasta el 9% mientras que la roya de la hoja no excedió el 3%. El contenido de nitrógeno foliar (%) de la hoja bandera al momento de antesis mostró diferencias significativas entre los tratamientos de N en el experimento del año 2005 ($p < 0.001$) siendo mayor en el tratamiento N1 (3.6%) que en el N0 (2.3%). Contrariamente, no se detectaron diferencias significativas ($p > 0.1$) entre tratamientos de N en el experimento de 2007 aunque la tendencia en los valores de contenido de N foliar fue similar a la observada en 2005 (i.e. N0 = 2.6% y N1 = 3.1%).

Los patógenos necrotróficos alcanzaron mayores niveles de severidad en los estratos foliares inferiores que en los superiores, ocurriendo lo contrario con roya de la hoja. Para el caso de los patógenos necrotróficos en el experimento de 2004 y para roya de la hoja y patógenos necrotróficos en los tratamientos N0 y N1 del año 2005, respectivamente; el progreso de la severidad fue acrópeto, i.e: infectando primero los estratos de hoja inferiores y luego los superiores. En 2007, la roya de la hoja afectó principalmente la hoja bandera (HB) pero con menores niveles de severidad que en el tratamiento N1 del año 2005. (Figura 3.1).

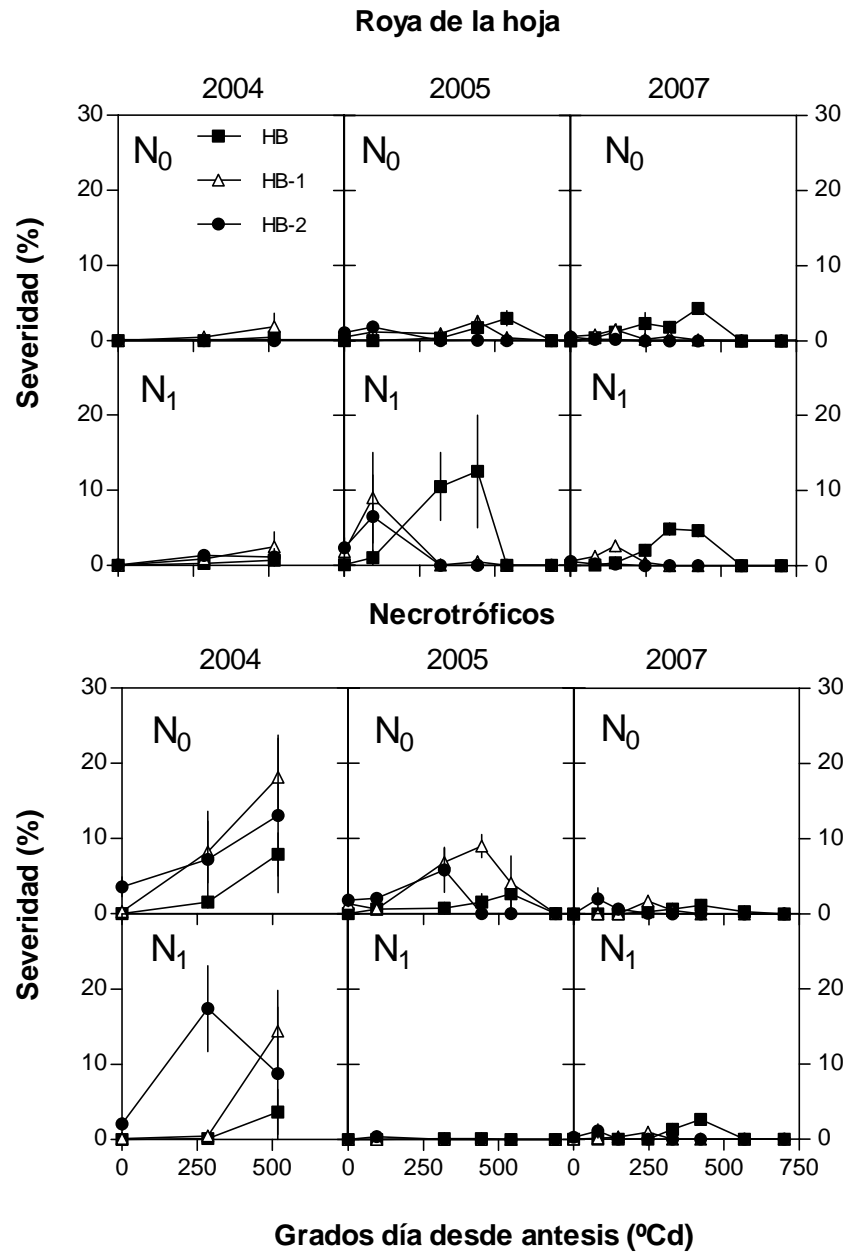


Figura 3.1.: Severidad de roya de la hoja (porcentaje de área cubierta con esporas) y de los patógenos necrotróficos (porcentaje de necrosis debido a patógenos necrotróficos) durante el período de llenado de granos para el tratamiento NP. Se muestran datos provenientes de dos tratamientos de disponibilidad nitrogenada (N0 y N1) y tres años de experimento (2004, 2005 y 2007). Los patógenos necrotróficos son considerados en conjunto (ver Materiales y métodos). HB (Hoja bandera), HB-1 y HB-2 se representan con cuadrados, triángulos y círculos, respectivamente. Las barras verticales indican el error estándar.

El análisis de prevalencia mostró que los patógenos necrotróficos predominantes fueron *D. tritici-repentis* (causante de Mancha amarilla) y *Alternaria triticina* (causante de Tizón de la hoja de trigo). Durante el año 2004 los valores de prevalencia fueron de 25 y 4% para mancha amarilla y tizón de la hoja, respectivamente en el tratamiento N0; mientras que en el tratamiento N1 los valores fueron de 20% para *D. tritici-repentis* y de 9% para *Alternaria triticina*. En el tratamiento N0 del experimento de 2005 los valores de prevalencia fueron de 41% y 17% para mancha amarilla y tizón de la hoja, respectivamente. Es importante resaltar que las enfermedades causadas por patógenos necrotróficos se mantuvieron en muy bajos niveles en el tratamiento N1 del experimento de 2005 y en ambos tratamientos de nitrógeno en el experimento de 2007 (Figura 3.1)

3.3.2. Índice de área foliar, Ei y Ea a nivel de canopeo

Los índices de área foliar total y verde (IAF y IAFv) del tratamiento protegido (P), al momento de antesis, variaron con la estación de crecimiento. Los mayores valores fueron observados en el año 2004 seguido por el año 2007, mientras que los menores fueron encontrados en el tratamiento N0 del año 2005. En todos los experimentos la tendencia general fue que el tratamiento N1 tuvo mayores valores de IAF y IAFv que el tratamiento N0. Como era esperado, el tratamiento P mostró siempre mayores valores de IAF y IAFv a lo largo de todo el período de llenado que el tratamiento NP en todas las estaciones de crecimiento (Figura 3.2).

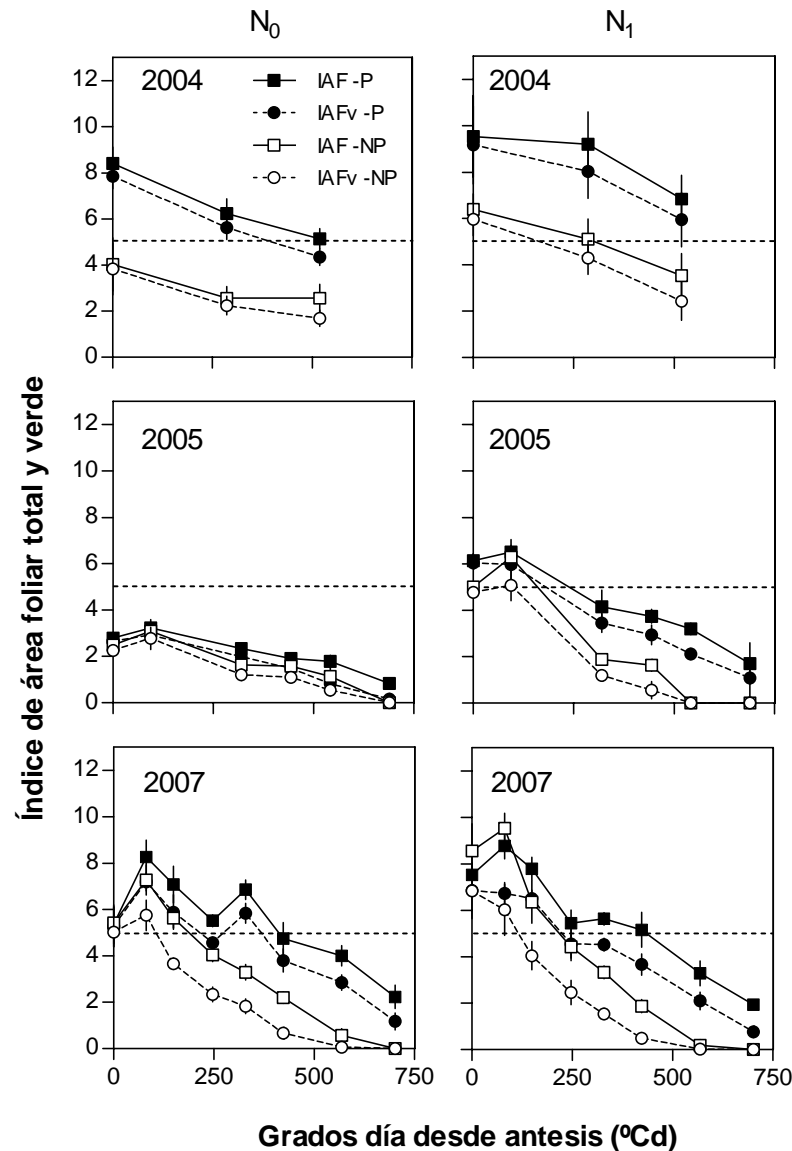


Figura 3.2.: Índice de área foliar total (IAF, cuadrados con líneas continuas) e Índice de área foliar verde (IAFv, círculos con líneas cortadas) durante el período de llenado de granos para los tratamientos P (símbolos llenos) y NP (símbolos vacíos) y para ambas condiciones de disponibilidad nitrogenada (N_0 y N_1) en los tres años de experimento (2004, 2005 y 2007). La línea horizontal cortada indica el IAF crítico (i.e. valor de IAF para el cual el cultivo intercepta el 95% de la máxima radiación posible de ser interceptada). Las barras verticales indican el error estándar.

Con respecto a la evolución del IAF durante el período de llenado, éste fue menor a su valor crítico al momento de antesis solo en el tratamiento NP y con baja disponibilidad nitrogenada (N_0) del experimento del año 2004 y en el tratamiento N_0 del experimento de 2005 en ambos tratamientos de enfermedad (P y NP). En el resto de los experimentos, el IAF se mantuvo en el valor crítico o por encima del mismo al estado de antesis, momento a partir del cual comenzó a reducirse. Las enfermedades aceleraron la tasa de reducción de IAF la cual, a su vez fue diferente dependiendo del año y el tratamiento de nitrógeno considerados (Figura 3.2). Aunque en el tratamiento N_0 del año 2005 el IAF estuvo debajo del valor crítico y sin diferencias importantes entre los tratamientos de P y NP, las enfermedades adelantaron el momento en que el

IAF cayó por debajo del valor crítico en todas las demás situaciones. Con respecto a los tratamientos nitrogenados, el N demoró el momento en que el IAF cayó por debajo del crítico en el experimento de 2004 debido a un mayor valor de IAF máximo alcanzado con respecto al tratamiento N0 (Figura 3.2).

Considerando que las enfermedades no afectaron el máximo IAF alcanzado por el cultivo (excepto en el tratamiento N0 del año 2004, datos no mostrados), el principal efecto de estas fue la reducción del IAF a lo largo del período de llenado de granos (Figura 3.2). A pesar de que las reducciones de IAFv estuvieron muy asociadas a las reducciones de IAF, al comparar la diferencia existente entre las curvas de IAF y IAFv (lo que representaría el IAFnv), éstas fueron mayores en el tratamiento NP que en el P (principalmente en 2007) sugiriendo que la cobertura del área verde de las hojas por lesiones producidas por las enfermedades incrementó el IAFnv, reduciendo en consecuencia el IAFv. Los mayores valores de IAFnv en las parcelas NP respecto de las P quedan en evidencia cuando se comparan las curvas de E_i y E_{aL} (ver Figura 3.4) y cuando se observa la radiación absorbida acumulada por área foliar no verde (ver Tabla 3.2).

Las estimaciones de los parámetros a y k , mediante el ajuste de la ecuación 3.1 a los datos medidos de E_i y IAF entre los estados de espigazón y antesis, fueron utilizadas para el cálculo de E_i , E_{aL} y E_{aC} a partir de mediciones de IAF realizadas durante todo el período de llenado de granos. Se obtuvieron niveles aceptables de ajuste para todas las situaciones según muestran los valores de coeficiente de regresión con la excepción del set de datos correspondiente a N1; para el cual no se registraron valores de IAF menores a 4 y por consiguiente el rango de E_i explorado fue demasiado acotado como para lograr un buen ajuste (Figura 3.3). Dado que los valores de k calculados para los diferentes tratamientos de nitrógeno y control de enfermedades no mostraron diferencias significativas, se utilizó el set completo de datos para obtener un único valor de a y de k , i.e. $a=0.91$ y $k=0.60$ (Figura 3.3). Estos valores de los parámetros fueron entonces utilizados para los cálculos de E_i , E_{aL} y E_{aC} a lo largo del período de llenado de granos.

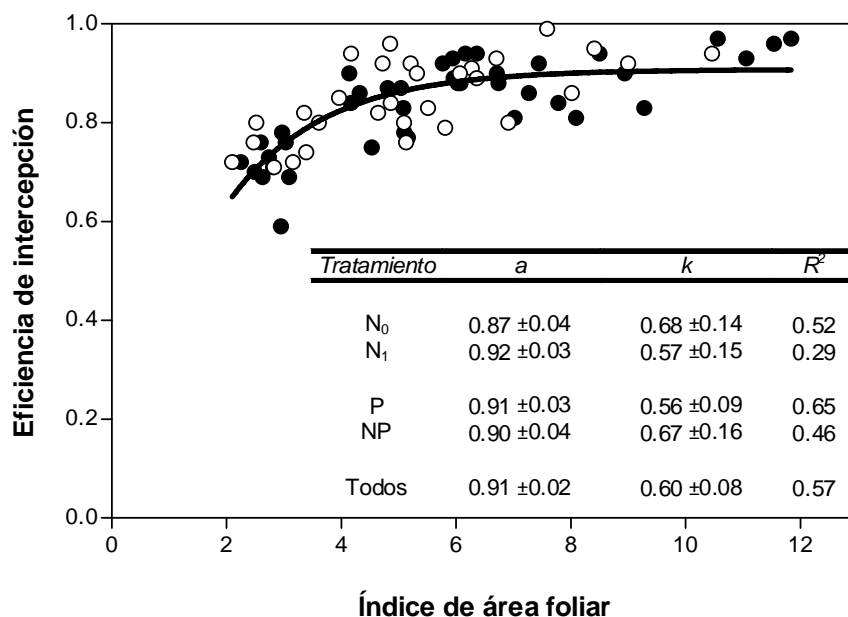


Figura 3.3.: Eficiencia de intercepción de radiación (E_i) en función del Índice de área foliar (IAF) utilizadas para las estimaciones de los parámetros a y k a partir de la ecuación 3.1. Los símbolos llenos y vacíos indican los tratamientos P y NP, respectivamente (datos de 2004 y 2005). La tabla inserta muestra los parámetros estimados (\pm medio intervalo de confianza, 95%) para los diferentes tratamientos de disponibilidad de N, de enfermedades y para el conjunto de los datos. Se muestra el coeficiente de correlación (R^2) para cada situación.

A pesar de la reducciones del IAF causada por las enfermedades desde inicios de llenado, la E_i en el tratamiento NP se mantuvo sin cambios o fue apenas afectada hasta aproximadamente la mitad del período de llenado de granos (Figura 3.4) cuando el IAF cayó por debajo de su valor crítico (Figura 3.2). Desde ese momento (i.e. mitad de llenado de granos) hasta la madurez fisiológica se observaron importantes reducciones de la E_i , producto de la caída en el IAF, como consecuencia de la presencia de enfermedades.

Contrariamente, la E_{aL} fue reducida por las enfermedades foliares inmediatamente luego de la antesis y con una mayor tasa en el tratamiento NP respecto del P, principalmente en el experimento conducido durante el 2007 en ambos tratamientos de N (Figura 3.4) en los cuales se observaron los mayores valores de IAF_{nv} como fue indicado en párrafos anteriores. La diferencia entre las curvas de intercepción y absorción observada en la Figura 3.4 representa la fracción de radiación incidente absorbida por área no verde la cual incluye área foliar enferma y senescente. Así, el área foliar enferma y/o senescente, interceptaron una importante cantidad de la radiación incidente durante el período de llenado de granos reduciendo consecuentemente la fracción de radiación absorbida por el cultivo. Claramente, estas reducciones fueron mayores en el tratamiento NP que en el P en la mayoría de las situaciones (tratamientos de N y años) durante una parte considerable del período de llenado de granos.

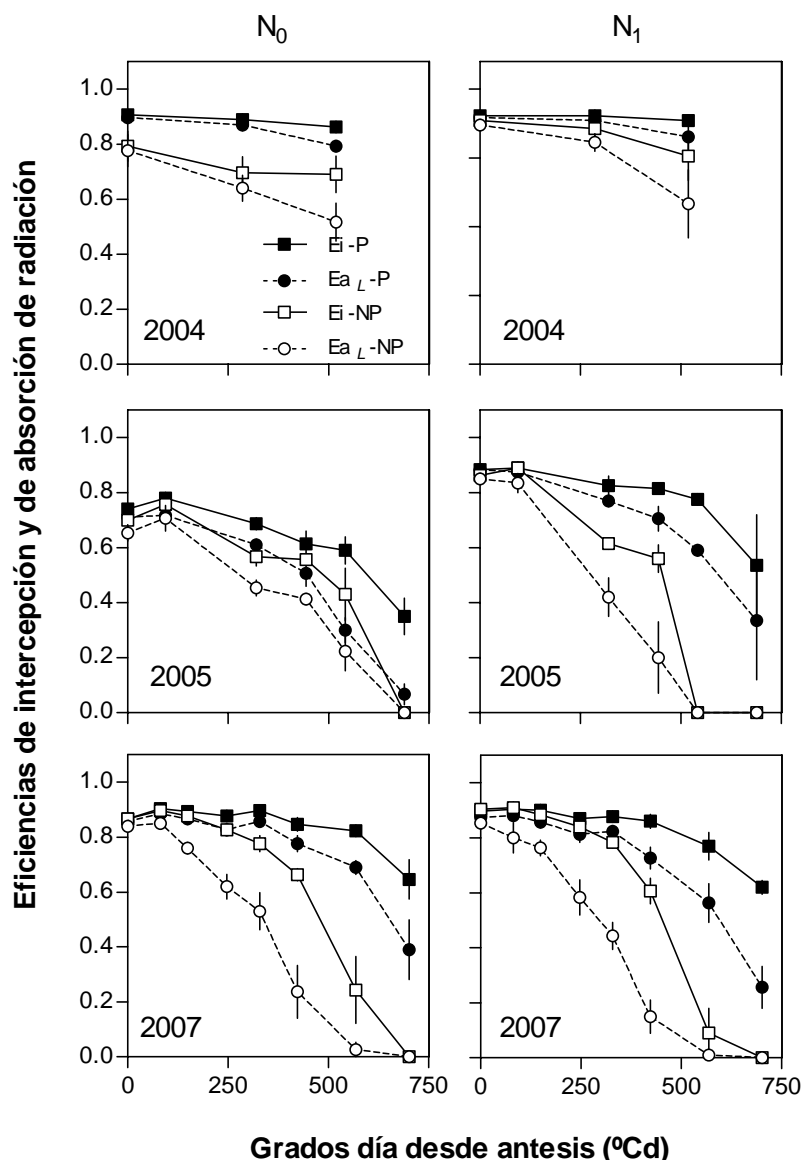


Figura 3.4.: Eficiencia de intercepción de radiación (E_i , cuadrados con líneas continuas) y eficiencia de absorción de radiación calculada con el modelo de estrato foliar (E_{aL} , círculos con líneas cortadas) durante el período de llenado de granos para los tratamientos P (símbolos llenos) y NP (símbolos vacíos) y para ambas condiciones de disponibilidad nitrogenada (N_0 y N_1) en los tres años de experimento (2004, 2005 y 2007). Las barras verticales indican el error estándar de las medias.

3.3.3. Índice de área foliar verde, E_i y E_a para los distintos estratos foliares

En términos generales, las enfermedades redujeron primero el IAFv de los estratos de hoja inferiores del canopeo, reduciéndolo más tardíamente en los superiores (Figura 3.5). En los experimentos de los años 2005 y 2007, las enfermedades redujeron el IAFv de los estratos de hoja HB-1 y HB-2 inmediatamente luego de antesis, alcanzando tales reducciones ca. 100% hacia mediados del período de llenado de granos; mientras que el IAFv de la hoja bandera (HB) permaneció sin cambios (respecto del tratamiento P) durante aproximadamente la primera mitad del período de llenado de granos siendo las reducciones en este estrato foliar de entre 20 y 80% pasado mediados de dicho período. El IAFv de la HB del tratamiento NP no fue significativamente

diferente del IAFv del tratamiento P en el tratamiento N0 del experimento de 2005 a lo largo del llenado. En el experimento del año 2004 el IAFv de las hojas de los estratos HB-1 y HB-2 fue reducido por las enfermedades previo al momento de antesis (30-45 % de reducción en antesis), sin embargo, el IAFv de la hoja bandera en el tratamiento NP no fue afectado durante todo el período de llenado de granos, manteniendo similares valores de IAFv a los encontrados en las parcelas P (Figura 3.5). Por lo tanto, el IAFv de la hoja bandera fue reducido solo en aquellas situaciones en las que la roya de la hoja predominó en el “complejo de enfermedades foliares” del cultivo (i.e: ambos tratamientos de nitrógeno del experimento de 2007 y el tratamiento N1 del experimento de 2005).

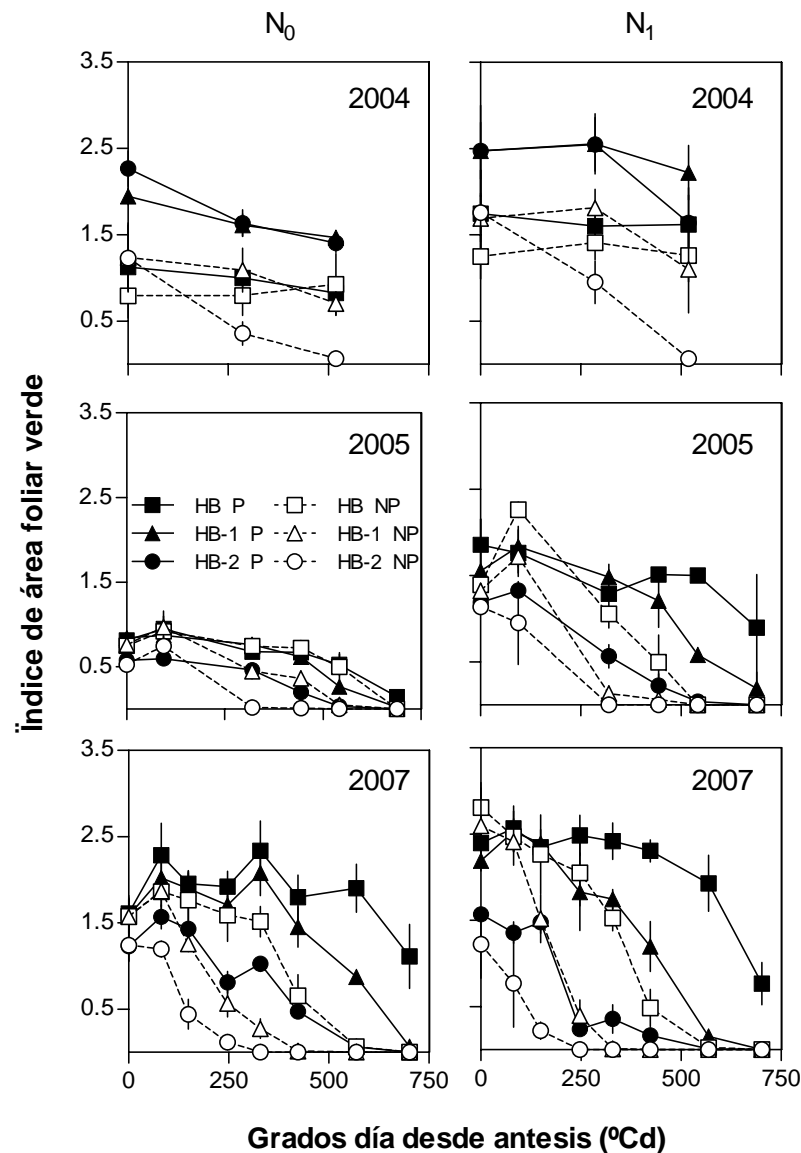


Figura 3.5.: Índice de área foliar para diferentes estratos foliares durante el período de llenado de granos para los tratamientos P (símbolos llenos) y NP (símbolos vacíos) y para ambas condiciones de disponibilidad nitrogenada (N0 y N1) en los tres años experimentales (2004, 2005 y 2007). HB (Hoja bandera), HB-1 y HB-2 se representan con cuadrados, triángulos y círculos, respectivamente. Las barras verticales indican el error estándar de las medias.

Debido a su posición dentro del canopeo, y generalmente a un mayor tamaño respecto del resto de las hojas, la hoja bandera (HB), mostró mayores valores de Ea_L que las hojas de posiciones inferiores. Esta diferencia fue más evidente en el experimento de 2007 en ambos tratamientos de N y en el tratamiento N1 en los experimentos de 2004 y 2005 (Figura 3.6). Los máximos valores de Ea_L de la HB fueron desde ca. 40% (N0-2005) a 75% (N1-2007). Dado que la HB intercepta proporcionalmente la mayor parte de la radiación incidente con respecto a las hojas de los demás estratos, las mayores diferencias en Ea_L entre los tratamientos NP y P fueron observadas en aquellas situaciones en que las enfermedades redujeron el IAFv de la HB (i.e. ambas disponibilidades de N en 2007 y N1 en 2005, situaciones donde la roya de la hoja predominó en el “complejo de enfermedades”). En el tratamiento N0 del año 2005, las enfermedades redujeron la Ea_L de los estratos HB-1 y HB-2 sin efectos sobre la Ea_L de la HB; mientras que en los experimentos de 2004, se observaron solo pequeñas diferencias y ninguna tendencia clara en los valores de Ea_L entre los tratamientos NP y P (Figura 3.6).

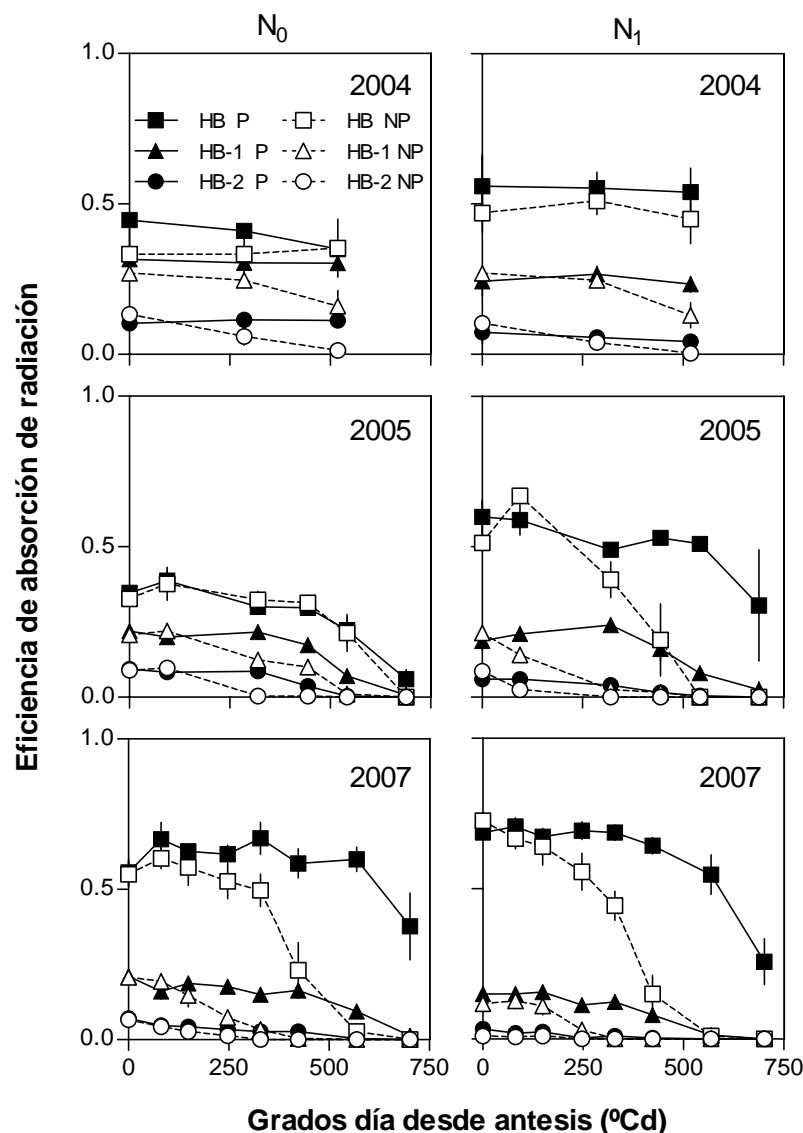


Figura 3.6.: Eficiencia de absorción de radiación para diferentes estratos foliares durante el período de llenado de granos para los tratamientos P (símbolos llenos) y NP (símbolos vacíos) y para ambas condiciones de disponibilidad nitrogenada (N_0 y N_1) en los tres años de experimento (2004, 2005 y 2007). HB (Hoja bandera), HB-1 y HB-2 se representan con cuadrados, triángulos y círculos, respectivamente. Las barras verticales indican el error estándar de las medias.

3.3.4. Efectos de las enfermedades sobre la Ea para cultivos con diferentes valores de IAF y k

En el presente estudio no se observaron diferencias significativas en los valores del coeficiente de extinción lumínica (k) asociadas a los tratamientos de nitrógeno y/o control de enfermedades. Sin embargo, este atributo (k) podría verse modificado por otras variables como por ejemplo el genotipo, afectando la E_i , la E_{aL} y la pérdida de absorción de radiación (PRA) debido a lesiones por enfermedades. De este modo, diferentes valores de k combinados con bajo y alto niveles de IAF y con tres diferentes patrones de distribución vertical de enfermedades foliares en el canopeo originaron importantes cambios en la E_i (Tabla 3.1). La variación en la E_i debido a cambios en el valor de k de 0.45 a 0.75 fue mayor en un cultivo con bajo nivel de IAF respecto de un

cultivo altos valores de IAF. Así, en un cultivo con un IAF de 3.1 la E_i se incrementó de 0.67 a 0.81, cuando el valor de k pasó de 0.45 a 0.75, respectivamente; mientras que cuando el IAF fue casi el doble (i.e. 6.1) la E_i se incremento de 0.86 a tan solo 0.90, respectivamente para ambos valores de k descriptos anteriormente (Tabla 3.1).

Tabla 3.1.: Valores simulados de eficiencia de intercepción de radiación (E_i) para el cultivo (Total) y para los estratos foliares HB (hoja bandera), HB-1 y HB-2 y; pérdida total de absorción de radiación (PRa) considerando que las enfermedades: (i) se concentraron en la hoja bandera (HB), (ii) en el tercer estrato foliar (HB-2) y (iii) cuando estas se distribuyeron uniformemente entre los tres estratos foliares superiores del cultivo (Uniforme). Entre paréntesis se muestra el porcentaje de E_i de cada uno de los estratos relativo a la E_i total. Para las simulaciones se consideró un valor de severidad (promedio de los tres estratos superiores) de 12.8%.

IAF	k	E_i				PRa (%)		
		HB	HB-1	HB-2	Total ^a	HB	HB-2	Uniforme
3.1	0.45	0.31 (46)	0.21 (32)	0.12 (18)	0.67	18.2	7.1	12.2
	0.60	0.39 (51)	0.23 (30)	0.11 (15)	0.76	20.3	5.8	12.3
	0.75	0.45 (56)	0.23 (29)	0.10 (12)	0.81	22.3	4.7	12.4
6.3	0.45	0.59 (69)	0.19 (22)	0.07 (8)	0.86	21.6	3.8	12.6
	0.60	0.68 (77)	0.16 (17)	0.04 (5)	0.89	24.1	2.4	12.7
	0.75	0.75 (83)	0.12 (14)	0.03 (3)	0.90	26.1	1.4	12.7

^a: El valor de E_i Total considera la totalidad de los estratos foliares. En esta tabla se muestran el valor individual de E_i para solo los tres estratos superiores (HB, HB-1 y HB-2) dado que en conjunto (sumatoria de los valores mostrados entre paréntesis) totalizan más del 95% del la E_i total.

Con respecto a la contribución de cada estrato, para un valor de k de 0.60 en un canopeo con un IAF de 3.1, la E_i de los estratos HB-1 + HB-2 representó el 45% del total de la E_i ; mientras que para un IAF de 6.3 la E_i de dichos estratos representó solo el 22% del total (Tabla 3.1). Por otro lado, cuando se varió el valor de k de 0.45 de 0.75 para un canopeo con un IAF de 6.3 la contribución relativa de los estratos HB-1 + HB-2 a la E_i total fue de 30 y 17%, respectivamente. Estos resultados ponen en evidencia la relevancia de los estratos inferiores en la intercepción de radiación en cultivos con bajos niveles de IAF y/o bajos valores de k respecto de aquellos con alto IAF y/o altos valores de k . Por ejemplo, en un cultivo con un nivel de IAF de 3.1 y un k de 0.45 el estrato HB-2 interceptó un 18% de la E_i total; mientras que en un cultivo con un IAF de 6.3 y un k de 0.75 dicho estrato interceptó solo el 3% de la E_i total (Tabla 3.1).

Considerando una severidad a nivel de planta de 12.8% (promedio de los estratos superiores, ver Materiales y Métodos) y concentrada en el estrato HB-2, las diferencias en intercepción mencionadas en el párrafo anterior (i.e. intercepción del 3 y 18% de la E_i total por parte del HB-2, para un IAF de 6.3 y k de 0.75 vs. un IAF de 3.1 y k de 0.45, respectivamente) determinaron pérdidas en la absorción de radiación (PRa) por parte del canopeo de ca. 1 y 7% para la primera y la última situación, respectivamente. Por otra parte, cuando se consideró una distribución vertical uniforme de las enfermedades en el canopeo la pérdida de absorción de radiación fue mayor que cuando las enfermedades fueron concentradas en el estrato inferior (HB-2) y menores

que cuando la severidad fue concentrada en el estrato de hoja bandera (HB) para todas las combinaciones de IAF y k (Tabla 3.1).

3.3.5. Radiación interceptada acumulada (RFAi), absorbida acumulada (RFAa), biomasa y EUR

De la misma manera que lo observado para las variables E_i y E_{aL} , y como consecuencia de ello, las enfermedades redujeron la RFAi y la RFAa_L durante el periodo de llenado de granos ($p < 0.05$ para todos los experimentos) (Tabla 3.2). En el experimento de 2005, existió interacción entre los tratamientos de nitrógeno y control de enfermedades para estas variables ($p < 0.01$), siendo las reducciones de RFAi y RFAa_L causadas por las enfermedades estadísticamente significativas solo en el tratamiento de alta disponibilidad nitrogenada (según test de Tukey con $\alpha = 0.05$). Como fue explicado anteriormente, en este experimento (2005) la composición del “complejo de enfermedades foliares” fue diferente dependiendo del tratamiento de nitrógeno. Mientras en el tratamiento N1 la enfermedad predominante fue la roya de la hoja, en el N0 predominaron los patógenos necrotróficos, principalmente *D. tritici-repentis* (agente causal de la Mancha amarilla) (Figura 3.1).

Tabla 3.2.: Radiación fotosintéticamente activa interceptada acumulada durante el período de llenado de granos por: (i) Área foliar verde (Radiación absorbida, RFAa_L), (ii) Área foliar no verde, (iii) Área foliar total (Radiación interceptada, RFAi) para los tratamientos protegido (P) y no protegido (NP) y de baja (N0) y alta (N1) disponibilidad nitrogenada durante los años 2004, 2005 y 2007. Se incluye análisis estadístico de los efectos principales de nitrógeno (N) y control de enfermedades (CE) y su interacción (N x CE). F.V.= fuente de variación de ANVA

Año o F.V.	Trat.	Radiación interceptada acumulada (MJ m ⁻²)					
		Área foliar verde		Área foliar no verde		Área foliar total	
		P	NP	P	NP	P	NP
2004	N ₀	231.4	167.5	12.7	30.5	244.1	198.0
	N ₁	237.5	195.0	11.2	30.1	248.7	225.2
N		ns		ns		*	
CE		***		***		**	
N x CE		ns		ns		ns	
2005	N ₀	177.5	147.5	54.6	38.0	232.2	185.5
	N ₁	254.5	129.9	36.7	42.2	291.1	172.1
N		*		ns		*	
CE		***		ns		***	
N x CE		***		*		***	
2007	N ₀	273.5	142.9	28.1	77.2	301.6	220.1
	N ₁	254.0	128.2	43.5	78.9	297.5	207.1
N		*		ns		ns	
CE		***		***		***	
N x CE		ns		ns		ns	

Los asteriscos indican el nivel de significancia: * (p<0.1), ** (p<0.05) y *** (p<0.01)

ns: diferencia no significativa.

Así, se observaron importantes reducciones de la RFAi debido a las enfermedades, las cuales fueron mayores en aquellas situaciones donde la roya de la hoja fue la enfermedad predominante en el “complejo de enfermedades foliares”. Pero además, el área foliar no verde (enfermo más senescente) interceptó parte de la radiación incidente, especialmente en los años 2004 y 2007 (p<0.01), disminuyendo de esta manera la cantidad de RFAa_L por el cultivo (p<0.01) (Tabla 3.2 y Figura 3.4). En este sentido, el IAFnv interceptó en promedio (incluyendo todos los tratamientos de N y todos los experimentos) cerca del 24% del total de RFAi en el tratamiento enfermo (NP) y solo el 12% en el tratamiento sano (P).

Con excepción del tratamiento N1 en 2004 y del tratamiento N0 en 2005, se observó en general, una reducción en la producción de biomasa área en pos-antes de debido a la presencia de enfermedades (Tabla 3.3). Así las enfermedades redujeron de manera significativa la producción de biomasa durante el llenado de granos en los experimentos de 2007 (p<0.1). Por su parte, en los experimentos de 2005 existió interacción entre los tratamientos de nitrógeno y control de enfermedades (p<0.01) solo

siendo significativa la reducción en la producción de biomasa debido a enfermedades en el tratamiento de alta disponibilidad nitrogenada (según test de Tukey con $\alpha=0.05$). Sin embargo, las enfermedades no redujeron la producción de biomasa de manera significativa en el año 2004. La tendencia general fue que a mayores reducciones de la RFAa_L, debido a la presencia de enfermedades, mayor fue la reducción de biomasa (Tabla 3.2 y 3.3). De hecho, la variación en la acumulación de biomasa durante el período de llenado de granos estuvo significativamente correlacionada con la variación en la RFAa_L durante el mismo período ($R^2 = 0.74$, $p<0.05$). De esta manera, las mayores reducciones de producción de biomasa por enfermedades se observaron en aquellos casos donde la roya de la hoja fue la enfermedad predominante en el “complejo de enfermedades”.

Tabla 3.3.: Biomasa aérea acumulada durante el período de llenado de granos para los tratamientos protegido (P) y no protegido (NP) y de baja (N0) y alta (N1) disponibilidad nitrogenada durante los años 2004, 2005 y 2007. Se incluye análisis estadístico de los efectos principales de nitrógeno (N) y control de enfermedades (CE) y su interacción (N x CE). F.V.= fuente de variación de ANVA

Año o F.V.	Tratamiento	Biomasa (g m ⁻²)	
		P	NP
2004	N ₀	604.5	602.4
	N ₁	782.0	674.7
N			**
CE			ns
N x CE			ns
2005	N ₀	434.9	495.1
	N ₁	1006.8	646.7
N			***
CE			**
N x CE			***
2007	N ₀	931.7	694.8
	N ₁	1056.3	555.2
N			ns
CE			*
N x CE			ns

Los asterísticos indican el nivel de significancia:

* ($p<0.1$), ** ($p<0.05$) y *** ($p<0.01$)

ns: diferencia no significativa.

Cuando se promediaron los datos de todos los experimentos y de ambos tratamientos de nitrógeno, se observó una mayor EUR_L en el tratamiento NP (3.72 ± 0.66 g MJ⁻¹) que en el P (3.28 ± 0.57 g MJ⁻¹). De hecho, en cuatro de seis situaciones, la EUR_L fue mayor para el tratamiento enfermo (NP) que para el sano (P), sin bien las diferencias entre los mismos no fue significativa ($p>0.1$) (Tabla 3.4). La EUR_L varió entre 2.7 y 4.0 g MJ⁻¹ en el tratamiento P y entre 2.9 y 4.7 g MJ⁻¹ en el tratamiento NP. Como era esperado, se observaron diferencias significativas para la EUR_L entre los

tratamientos de nitrógeno en los años 2004 y 2005 ($p < 0.05$), siendo menor la EUR_L a menor disponibilidad de N.

Tabla 3.4.: Eficiencia de uso de la radiación absorbida en pos-antesis calculada con el modelo de estrato foliar (EUR_L) para los tratamientos protegido (P) y no protegido (NP), bajo baja (N_0) y alta (N_1) disponibilidad nitrogenada durante los años 2004, 2005 y 2007. Se incluye análisis estadístico de los efectos principales de nitrógeno (N) y control de enfermedades (CE) y su interacción (N x CE). F.V.= fuente de variación de ANVA

Año o F.V.	Tratamiento	EUR_L (g MJ ⁻¹)	
		P	NP
2004	N_0	2.96	4.19
	N_1	4.04	3.92
N		**	
CE		ns	
N x CE		ns	
2005	N_0	2.95	3.17
	N_1	3.95	4.67
N		**	
CE		ns	
N x CE		ns	
2007	N_0	2.66	3.50
	N_1	3.13	2.90
N		ns	
CE		ns	
N x CE		ns	

Los asteriscos indican el nivel de significancia: * ($p < 0.1$), ** ($p < 0.05$) y *** ($p < 0.01$). ns: diferencia no significativa

Las comparaciones entre los modelos de estrato foliar y de canopy para el cálculo de $RFAa$ y EUR mostraron evidentes diferencias (Figura 3.7). La $RFAa$ fue subestimada cuando se utilizó el modelo de canopy si se la compara con la calculada utilizando el modelo de estrato foliar (Figura 3.7a). La subestimación de $RFAa_C$ respecto de $RFAa_L$ varió entre ca. 5% y 14% y entre 6 y 21% en los tratamientos P y NP, respectivamente. Contrariamente, y probablemente debido a la subestimación de $RFAa$, la EUR fue sobreestimada cuando se calculó con el modelo de canopy (EUR_C) (Figura 3.7b). Al comparar EUR_C con EUR_L , la sobreestimación de EUR_C fue mayor para el tratamiento NP (entre 6 y 29%) respecto del tratamiento P (entre 5 y 16%). Además, y del mismo modo que lo observado en las Tablas 3.2 y 3.3, la Figura 3.7 muestra que el mayor efecto de las enfermedades fue a través de reducciones de la $RFAa$, no existiendo una tendencia clara respecto de las variaciones de EUR entre los tratamientos P y NP.

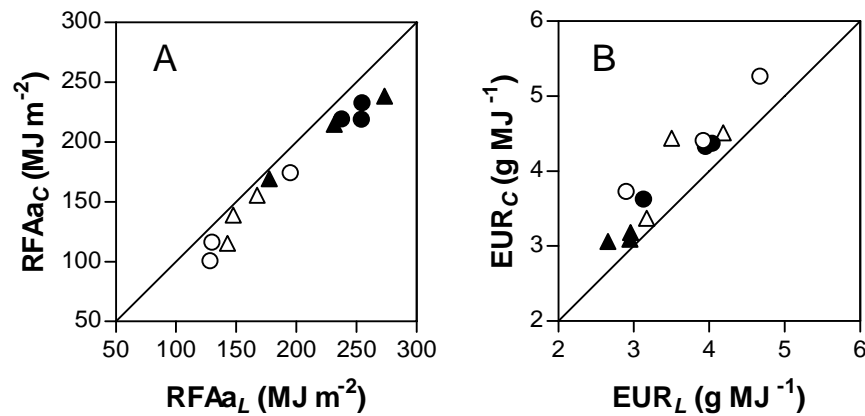


Figura 3.7.: (A) Radiación fotosintéticamente activa absorbida acumulada calculada con el modelo de canopy (RFAAc) vs radiación fotosintéticamente activa absorbida acumulada calculada con el modelo de estrato foliar (RFAaL) durante el período de llenado de granos. (B) Eficiencia de uso de la radiación absorbida calculada con el modelo de canopy (EURc) vs eficiencia de uso de la radiación absorbida calculada con el modelo de estrato foliar (EURL) durante el periodo de llenado de granos. Símbolos llenos y vacíos indican tratamientos P y NP, respectivamente. Los tratamientos N0 y N1 son representados con triángulos y círculos, respectivamente. Datos provenientes de todos los años de experimento. La línea diagonal indica la relación 1:1.

3.4. Discusión

Las variaciones en las condiciones de crecimiento generadas en el presente estudio a partir de diferentes fechas de siembra (años), fuentes de inóculo y tratamientos de nitrógeno produjeron canopeos con importantes variaciones en el IAF así como un amplio rango de niveles de enfermedades foliares con diferentes composiciones del “complejo de enfermedades” (patógenos necrotróficos y roya de la hoja). Así, la estructura experimental utilizada permitió estudiar cómo las enfermedades foliares redujeron la producción de biomasa a través de su efecto sobre diferentes variables ecofisiológicas en un amplio rango de situaciones de cultivo y enfermedades.

Al igual que lo observado previamente por Serrago et al. (2009), en el presente estudio, las enfermedades redujeron principalmente la interceptación y absorción de radiación del cultivo a través de reducciones del IAF y el IAFv, no causando reducciones significativas en la EUR. Las mayores reducciones de la RFAi y la RFAa se observaron en aquellos experimentos y tratamientos en los que el principal patógeno que afectó al cultivo fue la roya de la hoja (i.e. ambos tratamientos de N en 2007 y el tratamiento N1 en 2005), siendo menor la reducción en aquellas situaciones en que los patógenos necrotróficos (principalmente Mancha amarilla) dominaron el “complejo de enfermedades” (i.e. ambos tratamientos de N en 2004 y tratamiento N0 en 2005). Esta mayor reducción de la RFAa en las parcelas mayormente afectadas por roya de la hoja fue debido a que dicho patógeno causó mayores reducciones del IAFv en los estratos foliares superiores (i.e. aquellos estratos que interceptan la mayor proporción de la radiación) que las causadas por los patógenos necrotróficos. Diferentes evidencias de la literatura (Tiedemann, 1996; Robert et al., 2002) muestran que el desarrollo de la roya de la hoja (patógeno biotrófico) es favorecido bajo altos contenidos de nitrógeno foliar como fue el caso del tratamiento N1 del año 2005 y ambos tratamientos de N del año

2007 del presente estudio. Contrariamente, cuando el cultivo creció bajo condiciones de baja disponibilidad de N, y por lo tanto con una baja concentración de N foliar (tratamiento N0 del año 2005), los patógenos necrotróficos (principalmente Mancha amarilla) dominaron el “complejo de enfermedades foliares”.

Considerando que, en la mayoría de las situaciones el máximo IAF alcanzado por los cultivos no difirió entre los tratamientos P y NP, la reducción del IAF fue probablemente debido a incrementos de la cantidad de hojas totalmente senescidas (HTS). Los resultados de este capítulo mostraron que el impacto de las enfermedades foliares en la Ei depende del valor de IAF alcanzado al momento de aparición de las mismas confirmando lo especulado por otros autores (Cornish et al., 1990; Paveley et al., 2001), siendo el impacto menor o nulo en aquellas situaciones en las que las enfermedades no reducen el IAF por debajo del nivel crítico (i.e. cuando el cultivo intercepta el 95% de la radiación posible de ser interceptada). Una conclusión similar puede obtenerse mediante una re-interpretación de datos de la literatura (Madeira et al., 1994; Béasse et al., 2000; Jesus Junior et al., 2001). Además, la relación curvilínea existente entre la Ei y el IAF (Hipps et al., 1983) determina que, para un mismo nivel de reducción de IAF (cuando este cae por debajo del valor crítico) debido a la presencia de enfermedades, la disminución en los niveles de Ei serán proporcionalmente mayores en cultivos con bajo IAF que en cultivos con altos valores de IAF. Del mismo modo, Bingham et al. (2009) especulan que cultivos con mayores valores de IAF podrían tolerar mayores pérdidas de área foliar verde sin que se afecte la Ei al compararlos con cultivos con canopeos más laxos. De hecho, el razonamiento detrás de la especulación de Bingham et al. (2009) se basa en la capacidad buffer del IAF que permita mantener el nivel del mismo por encima del valor crítico.

Las enfermedades foliares no solo redujeron el IAF sino que además redujeron el IAFv debido a la presencia de lesiones afectando el área foliar presente lo cual incrementó el IAFnv en las hojas que aún no se encontraban totalmente senescidas. En este sentido, la diferencia entre RFAi y RFAa_L observada en el presente estudio pone de manifiesto que las partes enfermas y/o senescentes de hojas verdes (IAFnv) interceptaron una cantidad considerable de la radiación solar incidente. El tejido foliar no verde de un estrato foliar dado intercepta radiación que no podrá ser utilizada por los estratos foliares de más abajo (Bastiaans y Kropff, 1993), lo cual lleva a una pérdida neta de absorción de radiación para el crecimiento del cultivo. Algunos investigadores han calculado la Ea (y con ello RFAa) reemplazando el valor de IAF con el de IAFv en la ecuación 3.1 (e.g. Madeira et al., 1994; Bryson et al., 1997; Kumudini et al., 2008b). Esta manera de estimar la Ea no toma en cuenta la radiación interceptada por el área foliar no verde de los estratos foliares superiores (radiación pérdida), considerando entonces que esta radiación podría ser utilizada por el área verde de los estratos foliares inferiores dentro del canopeo, lo cual conduce a una sobreestimación de la radiación absorbida por el cultivo. Sin embargo, como es discutido en la literatura (Madeira et al., 1994), cuando las enfermedades foliares causan caída de hojas más que cobertura de área foliar con lesiones tal como ocurre en algunas especies leguminosas (e.g. soja), la aproximación mencionada podría resultar aceptable.

Además de la pérdida en la absorción de radiación, las enfermedades pueden reducir la tasa de fotosíntesis del área foliar verde remanente de las hojas enfermas. En este sentido, Bastiaans (1991) observó el desarrollo de las llamadas lesiones “virtuales” (lesión en partes verdes de la hoja que son consideradas visualmente sanas) causadas por *Pyricularia oryzae* en hojas de arroz (*Oryza sativa*) pero no detectó tales efectos en

hojas de trigo infectadas por *P. triticina*. Otras evidencias mostraron que la fotosíntesis del área foliar verde (aparentemente sana) de hojas infectadas con *P. triticina* (patógeno biotrófico) no fue reducida (Robert et al., 2005) o fue solo levemente reducida (Robert et al., 2004), aunque sí se observó una leve reducción de la fotosíntesis del área verde en hojas infectadas con *S. tritici* (patógeno hemi-necrotrófico) (Robert et al., 2004; Robert et al., 2006). La reducción de la capacidad fotosintética del área verde de hojas enfermas podría reducir la EUR a nivel de cultivo, sin embargo, no se observaron diferencias significativas para este atributo entre los tratamientos P y NP del presente estudio (dentro de cada tratamiento de N y año de experimento), sugiriendo que la capacidad fotosintética del área foliar visualmente sana (verde) no fue afectada por las enfermedades presentes. Bancal et al. (2007) observaron resultados similares en un cultivo de trigo infectado por roya de la hoja y *S. tritici* en forma conjunta.

La posición vertical de las enfermedades en el canopeo debería considerarse a la hora de calcular la RFAa dado que la intercepción de radiación de cada estrato decrece fuertemente desde las posiciones superiores hacia la parte basal del cultivo. Al igual que lo observado por Robert et al. (2004) y por Bancal et al. (2007), las enfermedades foliares redujeron inicialmente el IAFv de los estratos foliares inferiores progresando luego hacia las hojas superiores. Así, dado que la mayor proporción de la radiación solar incidente es interceptada por los estratos foliares superiores, la radiación absorbida por el cultivo no fue significativamente reducida hasta que las enfermedades alcanzaron dichos estratos. En este sentido, Rabbinge et al. (1985) trabajando con datos simulados para un cultivo de trigo infectado por oídio (*Erysiphe graminis*) mostraron que la reducción de la asimilación bruta diaria era mayor en aquellos cultivos donde el mismo nivel de severidad de oídio fue uniformemente distribuido o concentrado en los estratos foliares superiores respecto de aquellos en los que estuvo concentrado en los estratos foliares inferiores. Resultados similares fueron observados por Bastiaans y Kropff (1993) en un cultivo de arroz (*O. sativa*) infectado por *P. oryzae*.

Con respecto a la posición vertical de las enfermedades, las consecuencias en la absorción de radiación cuando las mismas están presentes en los estratos foliares inferiores depende del nivel de IAF y de la arquitectura del canopeo (valor de k). En este sentido, Bingham et al. (2009) teorizaron que cuando las enfermedades se ubican en los estratos foliares inferiores del canopeo, el impacto en la intercepción de radiación sería despreciable en cultivos con altos valores de IAF o en cultivares con hojas planófilas (altos valores de k). Los resultados simulados del presente estudio mostraron que las reducciones de la Ea debido a la presencia de enfermedades en los estratos foliares basales serían mayores en cultivos con bajos valores de k (que permiten que una mayor proporción de radiación alcance los estratos inferiores) respecto de aquellos con altos valores de k en los que la mayor parte de la radiación es absorbida por los estratos foliares superiores. Análogamente a lo observado por Rabbinge et al. (1985) mediante el uso de simulaciones en un cultivo de trigo afectado por oídio, los resultados de la presente tesis mostraron que cuando las enfermedades aparecen solo en los estratos foliares inferiores ocurrirían mayores reducciones de la radiación absorbida en cultivos con bajo IAF respecto de cultivos con alto IAF. Puede resumirse entonces que, cuanto menor el valor de k o de IAF, mayor la reducción de absorción de luz esperada cuando las enfermedades aparecen en los estratos de hojas inferiores del canopeo. Contrariamente, cuanto mayor el valor de k o de IAF, mayor la reducción esperada en la eficiencia de absorción de luz cuando las enfermedades están concentradas en los estratos foliares superiores del canopeo. En este sentido, los patógenos necrotróficos, los cuales se dispersan por el salpicado de las gotas de lluvia (*D. tritici-repentis*

principalmente) redujeron principalmente el IAFv de las hojas basales del canopeo con un efecto leve en el estrato de hoja bandera; mientras que, como fue detallado anteriormente, la roya de la hoja (patógeno de esporas livianas dispersadas por el viento) causó importantes reducciones del IAFv de las hojas superiores. Así, la potencial ventaja de cultivares de trigo con altos valores de k respecto de la tolerancia a enfermedades que aparecen en los estratos basales de hojas del canopeo, tal como fuera sugerido previamente por Bingham et al. (2009), es apoyada por los resultados surgidos de las simulaciones realizadas en el presente estudio. Sin embargo, tal hipótesis debería validarse testeando cultivares de trigo que difieran en su valor de k expuestos a combinaciones de infecciones de patógenos que causen enfermedades foliares en los estratos de la parte superior o de la parte inferior del canopeo.

La consecuencia de ignorar la distribución de las enfermedades en el perfil vertical de hojas del canopeo podría conducir a una subestimación de la RFAa (hasta en un 21%) y consecuentemente a una sobreestimación de la EUR (hasta en un 29%), en aquellos cultivos en los que las enfermedades aparecen predominantemente en los estratos foliares inferiores, cuando se comparan con los valores obtenidos con cálculos que si consideran cómo las enfermedades se distribuyen verticalmente en el canopeo (situación real). Los valores de EUR_L encontrados en el presente trabajo fueron similares o levemente superiores a aquellos reportados para cultivos no estresados (Johnson, 1987; Sinclair y Horie, 1989; Bastiaans y Kropff, 1993; Bancal et al., 2007), confirmando de esta manera que no considerar la distribución vertical de enfermedades en el canopeo podría llevar a sobreestimar la EUR (o subestimar la RFAa).

Aunque no se encontraron diferencias significativas, los valores de la EUR_L en el tratamiento enfermo (NP) fueron consistentemente mayores que en el tratamiento sano (P). Wang et al. (2001) observaron que el peso de los granos de una espiga de trigo era reducido aproximadamente un 35% cuando se sombreaba el pedúnculo y su vaina foliar o la espiga misma durante el período de llenado de granos. Por su parte, Robert et al. (2004) trabajando con datos simulados para cultivos de trigo afectados por enfermedades foliares sugieren que, cuando la fotosíntesis del tallo no es considerada el crecimiento de la planta es subestimado alrededor de un 14%. Teniendo en cuenta que en el presente estudio la radiación interceptada por el tallo y la espiga no fue considerada para los cálculos de RFAa y que la misma se convierte en un componente importante de la absorción total del cultivo cuando el IAFv decrece rápidamente hacia finales del período de llenado de granos, probablemente la RFAa para todo el cultivo haya sido subestimada y consecuentemente la EUR sobreestimada. La caída más temprana del IAFv en el tratamiento NP respecto del P durante el período de llenado de granos puede haber determinado una participación más importante del tallo y/o la espiga en la absorción de radiación total en el tratamiento NP resultando así en una mayor sobreestimación de la EUR en dicho tratamiento tal como se observó en los datos del presente estudio.

Por otro lado, la tasa de asimilación neta de carbono por unidad de área foliar disminuye con la edad de la hoja asociada a una disminución de la concentración de nitrógeno foliar (Evans, 1983; Connor et al., 1993). Sinclair y Horie (1989) demostraron que los cambios en el contenido de nitrógeno foliar están asociados a cambios en la EUR del canopeo a través del efecto del nitrógeno sobre la fotosíntesis. En el presente estudio, las hojas de las parcelas NP senescieron anticipadamente y por consiguiente en estados más jóvenes que aquellas de las parcelas P. Por lo tanto, las plantas del tratamiento P mantuvieron su tasa de crecimiento por un periodo más prolongado,

respecto de las del tratamiento NP, pero con una contribución de área foliar conformada por hojas más viejas en términos ontogénicos, las cuales tuvieron bajos niveles de fotosíntesis foliar determinando menores valores de EUR_L que en las parcelas del tratamiento NP. De hecho, cuando solo se consideró el período de tiempo durante el cual las hojas de las plantas del tratamiento NP se mantuvieron vivas (i.e. con al menos alguna porción de tejido verde) para el cálculo de la EUR_L (utilizando datos de los experimentos de 2005 y 2007), los valores obtenidos para ambos tratamientos (P y NP) fueron muy similares, siendo estos de $3.36 \pm 0.81 \text{ g MJ}^{-1}$ y $3.27 \pm 1.00 \text{ g MJ}^{-1}$ para los tratamientos P y NP, respectivamente; apoyando la especulación de que la edad de las hojas juega un papel importante en la estimación de la EUR_L cuando se comparan los tratamientos P y NP.

3.4.1. Conclusiones

Los resultados expuestos en este capítulo demostraron que las enfermedades foliares redujeron la interceptación y absorción de radiación del cultivo sin afectar la EUR. La interceptación de radiación no fue disminuida hasta que las enfermedades no redujeron el IAF por debajo del crítico. Además, parte de la radiación incidente fue interceptada por área foliar no verde (enferma o senescente) lo cual redujo la radiación absorbida por área foliar verde. Por otro lado, se observó que el efecto de las enfermedades sobre la radiación absorbida depende de la distribución vertical de las enfermedades, encontrándose mayores reducciones cuando las enfermedades alcanzaron los estratos superiores del cultivo. También se demostró que cuando las enfermedades permanecen en los estratos inferiores del cultivo (sin afectar los superiores) se producen mayores reducciones de absorción de radiación en cultivos abiertos (bajo IAF o k) que en cultivos cerrados. En tal sentido, en este estudio se observó que la roya de la hoja afectó principalmente las hojas superiores del canopeo, mientras que las manchas foliares causadas por patógenos necrotróficos (*D. tritici-repentis* causante de Mancha amarilla y *Alternaria triticina* causante de Tizón de la hoja de trigo) afectaron principalmente las hojas inferiores.

En el próximo capítulo, se abordará si la ausencia de efecto de enfermedades foliares sobre la EUR a nivel de canopeo observada en este capítulo se corresponde con una falta de efecto sobre dicho atributo a nivel foliar. Considerando que, tal como se demostró en este capítulo y como se cita en la literatura (Annone et al., 2001 y citas en este trabajo; Duveiller et al., 2007), la roya de la hoja es la enfermedad que causa los mayores daños al cultivo de trigo en la mayoría de las situaciones productivas, las mediciones de intercambio gaseoso se realizaron sobre hojas enfermas solo con este patógeno (*P. triticina*).

CAPÍTULO 4

¿Cómo la fotosíntesis de la hoja y los procesos relacionados son afectados por la roya de la hoja (*Puccinia triticina*) en un cultivo de trigo creciendo bajo diferentes disponibilidades de nitrógeno? ²

4.1. Introducción

Tal como fuera mencionado en el capítulo introductorio los patógenos foliares pueden agruparse en dos grandes grupos: 1) aquellos con mayor efecto sobre la captura de radiación y 2) aquellos con mayor efecto sobre la eficiencia de uso de la radiación (EUR). Los efectos de los patógenos foliares sobre ambos atributos fueron abordados en el Capítulo 3 a escala de cultivo. A escala de órgano, los efectos sobre la EUR pueden estar mediados por: i) reducciones de la tasa fotosintética, ii) captura o consumo de los asimilados producidos por la hoja y iii) reducciones de turgencia (Johnson, 1987). Con respecto a la tasa de fotosíntesis de las hojas, los patógenos pueden reducir la misma por una disminución en la captura de luz debido a la muerte total de tejidos, pero también por su efecto sobre la maquinaria fotosintética de tejido visualmente sano (verde). Así, considerando la fotosíntesis de una hoja enferma respecto a la de una sana, los patógenos pueden causar cambios proporcionalmente iguales, mayores o menores cuando son comparados con el nivel visual de enfermedad, dependiendo el sentido de este cambio del tipo de patógeno y de la especie hospedante (Shtienberg, 1992; Erickson et al., 2003). Reducciones proporcionalmente mayores en la capacidad fotosintética de la hoja (respecto del nivel de severidad) pueden ser interpretados como efectos negativos del patógeno sobre la fotosíntesis del área foliar verde remanente de hojas enfermas (Rabbinge et al., 1985; Bastiaans, 1991; Goodwin, 1992; Bassanezi et al., 2001; Lopes y Berger, 2001; Bassanezi et al., 2002; Kumudini et al., 2008a), mientras que reducciones proporcionalmente menores pueden asociarse a incrementos en la tasa fotosintética del área verde remanente (fotosíntesis compensatoria) de la hoja enferma (Livne, 1964; Mignucci y Boyer, 1979; Murray y Walters, 1992).

Tal como se demostró en el capítulo anterior y de acuerdo con datos de la literatura (Annone et al., 2001 y citas en este trabajo; Duveiller et al., 2007), la roya de la hoja es la enfermedad que causa los mayores daños al cultivo de trigo en la mayoría de las situaciones productivas. En lo que respecta específicamente a esta enfermedad, distintas evidencias de la literatura no han observado efectos importantes de dicho patógeno sobre la fotosíntesis del área verde remanente de hojas enfermas por dicho patógeno (Bastiaans, 1991; Robert et al., 2004; Robert et al., 2005), aunque los trabajos que estudiaron tales efectos fueron realizados en hojas expuestas a saturación lumínica, es decir, solo consideraron los efectos de los patógenos foliares sobre la fotosíntesis neta máxima del área verde remanente de hojas enfermas. Sin embargo, en el cultivo de trigo, como en cualquier cultivo de cobertura continua, la luz se extingue a medida que penetra en el canopeo (Dreccer et al., 2000) lo que origina que la intensidad de luz que incide sobre las hojas varíe según la posición del canopeo en que se encuentre. A su vez, la carga de radiación recibida por cada hoja de un canopeo varía a lo largo del día

² Los resultados de este capítulo fueron publicados en: Carretero, R.; Bancal, M. O. and Miralles, D. J. 2011. Effect of leaf rust (*Puccinia triticina*) on photosynthesis and related processes of leaves in wheat crops grown at two contrasting sites and with different nitrogen levels. Eur. J. Agron. In Press.

debido a cambios en el ángulo de inclinación solar. Así, el efecto de los patógenos foliares sobre la fotosíntesis podría ser diferente dependiendo de la intensidad de luz que reciba la hoja.

Por otra parte, ante un mismo nivel de radiación solar recibida la tasa de fotosíntesis cambia con el contenido de nitrógeno foliar (Evans, 1983; Sinclair y Horie, 1989; Connor et al., 1993) y debido a ello con la posición de la hoja en el canopeo y con la edad foliar (Rabbinge et al., 1985; Connor et al., 1993; Dreccer et al., 2000). Así, de la misma manera que lo expresado para la intensidad de luz, el efecto de los patógenos foliares sobre la tasa fotosintética de las hojas podría variar según los niveles de nitrógeno que contenga la hoja. En tal sentido, Robert et al. (2005; 2006) no encontraron interacción entre el contenido de nitrógeno foliar y las enfermedades (roya de la hoja y *Septoria tritici* en cada trabajo, respectivamente) sobre la fotosíntesis neta máxima del área verde remanente de hojas enfermas. Sin embargo, el rango de variación de nitrógeno foliar explorado en dichos estudios no fue lo suficientemente amplio como para originar diferencias significativas en la tasa de fotosíntesis entre tratamientos de nitrógeno.

Por último, tal como se indicó en el capítulo introductorio de esta tesis, las enfermedades foliares pueden reducir la tasa fotosintética foliar neta por la propia respiración (emisión de CO₂) del patógeno (Owera et al., 1981) o por efectos sobre los procesos fisiológicos de la hoja: la tasa respiratoria (Scholes y Farrar, 1986; Lopes y Berger, 2001; Bassanezi et al., 2002; Kumudini et al., 2008a), la conductancia estomática (Bowden et al., 1990; Hampton et al., 1990; Haverkort et al., 1990; Xiao y Subbarao, 1998; Lopes y Berger, 2001) o procesos fotosintéticos *per se* (e.g. enzimas relacionadas con la fijación de CO₂) (Bastiaans, 1993; Lopes y Berger, 2001; Bassanezi et al., 2002; Erickson et al., 2003; Kumudini et al., 2008a). El efecto de la roya de la hoja de trigo sobre la conductancia estomática y sobre los procesos fotosintéticos *per se* solo fue estudiado por Bethenod et al. (2001). Sin embargo, en tal estudio las mediciones de intercambio gaseoso fueron realizadas sobre hojas de plantines de trigo crecidos en macetas y dentro de un invernáculo con niveles de radiación muy por debajo de los existentes en condiciones de campo, por lo que no es factible extrapolar dichos resultados a condiciones de cultivo.

En resumen, estas evidencias demuestran que es muy poco o nada lo que se sabe respecto del efecto de la roya de la hoja (principal enfermedad del trigo en la región pampeana) sobre la fotosíntesis de hojas explorando diferentes condiciones lumínicas y con diferente contenido de nitrógeno (variabilidad que exploran las hojas del canopeo) y menos aún se ha avanzado en cuáles son los procesos determinantes de la fotosíntesis que son afectados por esta enfermedad. Por ello, en el presente capítulo se investiga el efecto de la roya de la hoja de trigo sobre los parámetros de la fotosíntesis foliar (i.e. F_{max} , eficiencia de uso de la radiación y tasa respiratoria) en hojas expuestas a diferentes niveles de radiación y con distintos contenidos de nitrógeno y se analizan las bases fisiológicas de tales efectos (i.e. conductancia estomática o procesos fotosintético *per se*). Para lograr este objetivo, se tomaron mediciones de intercambio gaseoso (y variables relacionadas) periódicamente en hojas de trigo sanas y enfermas expuestas a saturación lumínica y a diferentes niveles de radiación con el objetivo de construir curvas de respuesta de fotosíntesis en función de la radiación incidente. Tales mediciones fueron tomadas en hojas bandera con diferentes niveles de severidad de roya de la hoja desde el momento de anthesis en adelante en experimentos con diferentes dosis de fertilización nitrogenada, fechas de siembra y condiciones ambientales (sitios).

4.2. Materiales y métodos

4.2.1. Condiciones generales

Se llevaron a cabo cuatro experimentos a campo durante diferentes estaciones de crecimiento. Dos experimentos fueron conducidos en Grignon (Estación experimental INRA-EGC, Francia; 48°50'N; 1°57'E) durante la estación de crecimiento 2004/05 (experimentos *2005G1* y *2005G2*) y otros dos experimentos se condujeron en Buenos Aires (Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Argentina; 34°35'S; 58°29'W) durante las estaciones de crecimiento de 2005 y 2007 (experimentos *2005BA* y *2007BA*). Si bien se aplicaron tratamientos de manera factorial con dos niveles de disponibilidad de nitrógeno contrastantes y dos niveles de enfermedad (ver detalles en Capítulo 2), las mediciones se realizaron sobre hojas de plantas elegidas de manera azarosa dentro de las diferentes parcelas, es decir, la unidad experimental del estudio fueron las plantas, más precisamente, las hojas. Respecto del nitrógeno los datos se agruparon para su análisis en los dos niveles de este tratamiento (N0 y N1)

4.2.2. Mediciones

Se realizaron mediciones de intercambio gaseoso de las hojas con un sistema portátil de paso abierto (LI-6400; Li-Cor, Lincoln, USA) provisto de una fuente de luz roja y azul (6400-02B, Licor) y una cámara de mediciones de 6 cm² (3x2 cm). Las mediciones se realizaron en la sección central de láminas de hojas bandera tanto sanas como enfermas con roya de la hoja en diferentes momentos desde la aparición de síntomas de la enfermedad en adelante (desde el estado de hoja bandera completamente expandida). Así, desde el estado de hoja bandera en adelante se seleccionaron aleatoriamente de las distintas parcelas hojas sanas y enfermas (con diferentes grados de severidad de roya de la hoja) y se tomaron sobre ellas mediciones de intercambio gaseoso a saturación lumínica, es decir, con una intensidad de radiación fotosintéticamente activa de 1500 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (400-700 nm). La concentración de CO₂ en el interior de la cámara de muestreo fue fijada en $400 \pm 2 \mu\text{mol de CO}_2 \text{ mol}^{-1}$ de aire utilizando un sistema inyector de CO₂ (6400-01, LI-COR). En el experimento de Buenos Aires del año 2007 el intercambio gaseoso de cada hoja muestreada fue medido para un rango de radiación incidente que varió de la siguiente manera: 800, 1000, 1800, 1500, 1000, 500, 200, 100, 50, 20 y 0 $\mu\text{mol de fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$. El sentido creciente y luego decreciente de la intensidad de luz fue utilizado para descartar que existiera histéresis en la curva de fotosíntesis-radiación generada por falta de aclimatación de la hoja a la luz. No se observó histéresis para ninguna de las hojas evaluadas. La medición de intercambio gaseoso para cada nivel de radiación fue tomada una vez que las lecturas de concentración de CO₂ y de conductancia estomática alcanzaban la estabilidad en la cámara de muestreo.

Luego de realizadas las mediciones de intercambio gaseoso, la sección central de las hojas donde se tomó cada medición fue fotografiada con una cámara digital. Estas imágenes digitales fueron utilizadas para determinar el área verde y enferma de cada sección mediante un programa de análisis de imágenes denominado Assess (Lamari, 2002). Se consideró como área enferma a aquella cubierta por pústulas de roya así como también al tejido clorótico (amarillo).

En el experimento de Buenos Aires del año 2007 se realizaron mediciones indirectas de clorofila mediante el uso de un clorofilometro (SPAD-502; Minolta Camera Co., Osaka, Japan) con el objetivo de contar con un indicador del nivel de nitrógeno y clorofila de las hojas. Dichas mediciones se realizaron sobre tres porciones de tejido verde dentro de la sección sobre la que se midió la tasa fotosintética e inmediatamente luego de tomada la misma. Si bien no se realizó curva de calibración, está demostrado para varias especies, cultivares y situaciones la robusta relación entre los valores de SPAD y la concentración del pigmento clorofila (Uddling et al., 2007)

4.2.3. Cálculos y análisis de datos

La tasa de fotosíntesis neta (F_{neta}) ($\mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2}$ de área verde s^{-1}), la tasa de fotosíntesis neta a saturación lumínica (F_{max} = fotosíntesis neta máxima) ($\mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2}$ de área verde s^{-1}), la conductancia estomática (g_s) ($\text{mol de H}_2\text{O m}^{-2}$ de área verde s^{-1}) y la concentración interna de CO_2 (C_i) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$ de aire) fueron calculadas considerando solo el área verde remanente (área visualmente sana) de la sección de hoja dentro de la cámara de muestreo. También se calculó la diferencia de presión de vapor entre la cámara subestomática y el ambiente (DPV) (kPa) y se midió la temperatura de la hoja con una termocupla incorporada en el mismo aparato de medición de intercambio gaseoso. Todos los cálculos fueron realizados de acuerdo con las ecuaciones propuestas por von Caemmerer y Farquhar (1981). En hojas enfermas los valores de g_s cuantifican la pérdida de agua a través de estomas y de las lesiones originadas por el patógeno en la epidermis. Se asumió que la relación de difusión entre H_2O y CO_2 (1.6) fue la misma para ambas vías. Con tales supuestos fue posible comparar los valores de g_s y C_i obtenidos entre hojas sanas y enfermas. Los valores de g_s y C_i fueron calculados para condiciones de saturación lumínica ($1500 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$).

La F_{\max} de hojas sanas y enfermas fue calculada también considerando el total de área foliar de la sección de hoja medida (área verde + enferma) ($\mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2}$ de área total s^{-1}). Los valores obtenidos para el total de área foliar fueron comparados de acuerdo con el modelo propuesto por Bastiaans (1991):

$$F_x/F_{0(x)} = (1-x)^\beta \quad (\text{Ecuación 4.1})$$

el cual relaciona la fotosíntesis neta relativa (F_x/F_0) con la severidad de roya de la hoja. Cada valor de F_x/F_0 fue calculado como la relación entre la F_{\max} (considerando el área foliar total) de una hoja enferma (F_x) con severidad x y la F_{\max} promedio de 2 a 3 hojas sanas (F_0) medidas todas ellas cercanas en el tiempo. De acuerdo con Bastiaans (1991) el valor de β representa la relación entre el área foliar ocupada por lesiones virtuales y visuales. La lesión virtual corresponde al área en el que la fotosíntesis es afectada (y se asume como cero) aunque a la vista aparezca verde. Así, el valor de β indica si la F_{\max} del área foliar verde remanente de una hoja enferma es afectada negativamente ($\beta > 1$), positivamente ($\beta < 1$) o no es afectada ($\beta = 1$) por el patógeno foliar.

La respuesta de la F_{neta} a la intensidad de luz fue analizada mediante el ajuste de los datos a una función exponencial negativa (Goudriaan y van Keulen, 1979) como sigue:

$$F_{\text{neta}} = [F_{\max} + R] [1 - \exp(-\epsilon I / (F_{\max} + R))] - R \quad (\text{Ecuación 4.2})$$

donde F_{\max} es la tasa de fotosíntesis neta a saturación lumínica ($\mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), R es la tasa de respiración en oscuridad ($\mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), I es la radiación fotosintéticamente activa incidente ($\mu\text{mol de fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) y ϵ es la eficiencia cuántica aparente ($\mu\text{mol de CO}_2 \mu\text{mol fotones}^{-1}$) i.e. la eficiencia de uso de la radiación interceptada. La tasa de fotosíntesis bruta (F_{bruta}) fue considerada como la suma de la F_{neta} y la R . A pesar de que existen trabajos que indican que la R en hojas expuestas a la luz difiere de aquella medida en oscuridad (Atkin et al., 2000), las estimación de R a partir de mediciones en hojas expuestas a oscuridad para la determinación de F_{bruta} es una metodología aceptada (Atkin et al., 1997). Los cálculos de las variables mencionadas fueron realizados (i) considerando solo el área verde remanente por un lado y (ii) considerando el área foliar total (verde + enferma) por el otro. Además, al igual que para la F_{\max} del área total se calculó la F_{bruta} máxima, la respiración y la eficiencia cuántica aparente relativas ($F_{\text{bruta}x}/F_{\text{bruta}0}$, R_x/R_0 y ϵ_x/ϵ_0 , respectivamente). Los datos de la $F_{\text{bruta}x}/F_{\text{bruta}0}$ en función de la severidad se ajustaron al modelo de Bastiaans (1991) (ecuación 4.1).

Se realizaron comparaciones entre hojas sanas y enfermas para las variables DPV y temperatura foliar (Figura 4.1) y para la variable conductancia de área verde a partir de gráficos x - y (sanas-enfermas). Cada punto x - y corresponde al promedio de 2-3 hojas sanas (eje x) y 5-10 hojas enfermas (eje y) medias todas ellas cercanas en el tiempo dentro de una misma fecha de muestreo.

Los datos de C_i se relacionaron con los de g_s del área foliar verde para las hojas sanas y para cuatro grupos de severidad (0-5%; 5-10%; 10-20% y mayor de 20%) y se ajustaron al modelo $y = a - b \cdot \exp^{(-c \cdot x)}$ (Figura 4.6). El parámetro a de este modelo indica el máximo valor de C_i posible de ser alcanzado bajo condiciones de no limitación por conductancia estomática.

Las comparaciones entre hojas enfermas y sanas y entre tratamientos de disponibilidad nitrogenada (dentro de cada experimento) para los parámetros de los modelos ajustados y para las medias se realizaron con t-test o intervalo de confianza del 95 %.

4.3. Resultados

4.3.1. Condiciones ambientales exploradas por las hojas muestreadas

Considerando los ambientes explorados a través de los distintos experimentos (incluyendo diferentes sitios, fechas de siembra y tratamientos nitrogenados) las hojas utilizadas para las mediciones de intercambio gaseoso fueron expuestas a un amplio rango de valores de diferencia de presión de vapor hoja-ambiente (DPV) (0.35 a 1.78 kPa) y de temperatura de hoja (18.5 a 31.0 °C). Ambas variables afectan la tasa de intercambio gaseoso entre la hoja y el ambiente que la rodea principalmente a través de sus efectos sobre la conductancia estomática y la actividad enzimática, respectivamente. A pesar del amplio rango de estas variables explorado en el presente estudio, las hojas enfermas y sanas que fueron comparadas entre sí respecto de sus variables de intercambio gaseoso (i.e. fotosíntesis, respiración, etc) exploraron similares valores de DPV y temperatura (Figura 4.1). Aunque los valores de DPV fueron más variables que los de temperatura de hoja, cuando ambas variables fueron relacionadas entre hojas sanas y enfermas para las cuales se compararon las mediciones de intercambio gaseoso, las pendientes resultantes no fueron significativamente diferentes de uno y la ordenada al origen no fue diferente de cero (de acuerdo a las comparaciones por intervalo de confianza del 95%). El hecho de que los valores de DPV y temperatura de las hojas sanas y enfermas no fueran diferentes aseguró la confiabilidad de las comparaciones realizada para intercambio gaseoso dado que las condiciones ambientales exploradas no constituyeron un artefacto que pudiera enmascarar o confundir las diferencias de las variables comparadas entre hojas sanas y enfermas (i.e. F_{\max} , F_{net} , R , F_{bruta} , g_s y C_i). Más aún, la amplia variabilidad lograda en las condiciones ambientales debida a las diferentes fechas de muestreo, sitios y años de experimento, permitió evaluar el efecto de la roya de la hoja sobre variables de intercambio gaseoso (i.e. fotosíntesis, respiración, etc.) comparando hojas enfermas y sanas expuestas a similares condiciones de temperatura y DPV pero para un amplio rango de ambas variables ambientales.

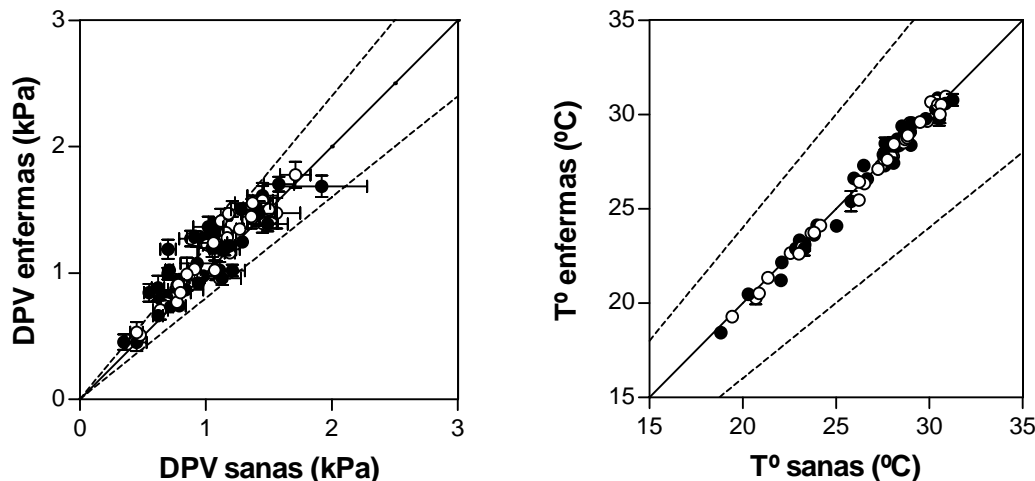


Figura 4.1.: Relaciones entre la diferencia de presión de vapor (DPV) y la Temperatura (T°) de hojas enfermas y sanas para bajo (símbolos vacíos) y alto (símbolos llenos) nivel de disponibilidad nitrogenada. La línea diagonal llena representa la relación 1:1 entre variables y las líneas punteadas indican el límite del 20% superior e inferior respecto de la relación 1:1. Las barras horizontales y verticales indican el error estándar en el eje x y en el eje y, respectivamente. Se incluyen datos de todos los experimentos.

4.3.2. Fotosíntesis de hojas sanas y enfermas a saturación lumínica

En hojas sanas la F_{\max} varió entre 11.0 y 32.3 $\mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (considerando todas las mediciones realizadas), confirmando el amplio rango de condiciones ambientales generadas debido a la utilización de diferentes sitios, fechas de siembra y tratamientos nitrogenados incluyendo la variación en la edad de las hojas muestreadas. Excepto en el experimento 2005G2, en el resto de los experimentos la F_{\max} del tratamiento N1 fue significativamente mayor que en el tratamiento N0 (de acuerdo con comparaciones por intervalo de confianza del 95%) (Tabla 4.1). La severidad de la roya de la hoja de las secciones de hojas muestreadas, caracterizada como la proporción de área cubierta con pústulas más el área clorótica (amarilla), exploró un amplio rango alcanzando valores máximos cercanos a 0.50 en el tratamiento N1 mientras que en el tratamiento N0 dicho valores no excedieron los 0.40 puntos excepto por una sola hoja del experimento 2005G2 que alcanzó un valor de 0.50 (Figura 4.2).

Tabla 4.1.: Valores promedio de F_{\max} de hojas sanas (\pm medio intervalo de confianza de 95%) y estimaciones del parámetro β (\pm medio intervalo de confianza de 95%) para diferentes experimentos (años, sitios y fechas de siembra), para baja y alta disponibilidad nitrogenada (N0 y N1) y para el set completo de datos dentro de cada experimento (Todos). Se incluye el número de datos F_x/F_0 utilizados en cada caso (n) y el coeficiente de correlación (R^2) para el ajuste de los datos al modelo de Bastiaans (1991).

Exp.	N	F_{\max} sanas	β	R^2	n
2005G1	N ₀	15.0 \pm 1.35	1.92 \pm 0.49	0.42	57
	N ₁	19.0 \pm 1.55	2.56 \pm 0.41	0.71	60
	Todos		2.35 \pm 0.31	0.66	117
2005G2	N ₀	16.7 \pm 1.85	2.17 \pm 0.67	0.41	37
	N ₁	17.0 \pm 1.91	2.64 \pm 0.73	0.43	41
	Todos		2.31 \pm 0.49	0.44	78
2005BA	N ₀	21.0 \pm 0.96	2.32 \pm 0.29	0.62	138
	N ₁	24.6 \pm 0.69	2.12 \pm 0.20	0.72	169
	Todos		2.18 \pm 0.16	0.69	307
2007BA	N ₀	17.7 \pm 1.73	3.15 \pm 0.69	0.69	35
	N ₁	20.9 \pm 1.82	3.51 \pm 0.49	0.88	36
	Todos		3.37 \pm 0.40	0.83	71

Al analizar el efecto de la roya de la hoja sobre la F_{\max} mediante el ajuste de los datos de F_x/F_0 y x al modelo de Bastiaans (1991), el coeficiente de determinación varió entre 0.41 y 0.88 (Tabla 4.1) siendo la dispersión de los puntos alrededor de la curva ajustada mayor en Grignon que en Buenos Aires (Figura 4.2). Los valores estimados de β variaron entre 1.92 \pm 0.49 para el tratamiento N0 del experimento 2005G1 y 3.51 \pm 0.49 para el tratamiento N1 del experimento 2007BA. Aunque los valores de β estimados fueron mayores en el tratamiento N1 que en el N0 en tres de los cuatro experimentos (Tabla 4.1 y Figura 4.2), no se observaron diferencias significativas entre dichos tratamientos (de acuerdo con comparaciones por intervalo de confianza del 95%). Los valores de β fueron, en todos los casos, significativamente mayores que 1 (de acuerdo con comparaciones por intervalo de confianza del 95%) indicando un efecto negativo de la roya de la hoja sobre la F_{\max} del área foliar verde remanente de hojas enfermas.

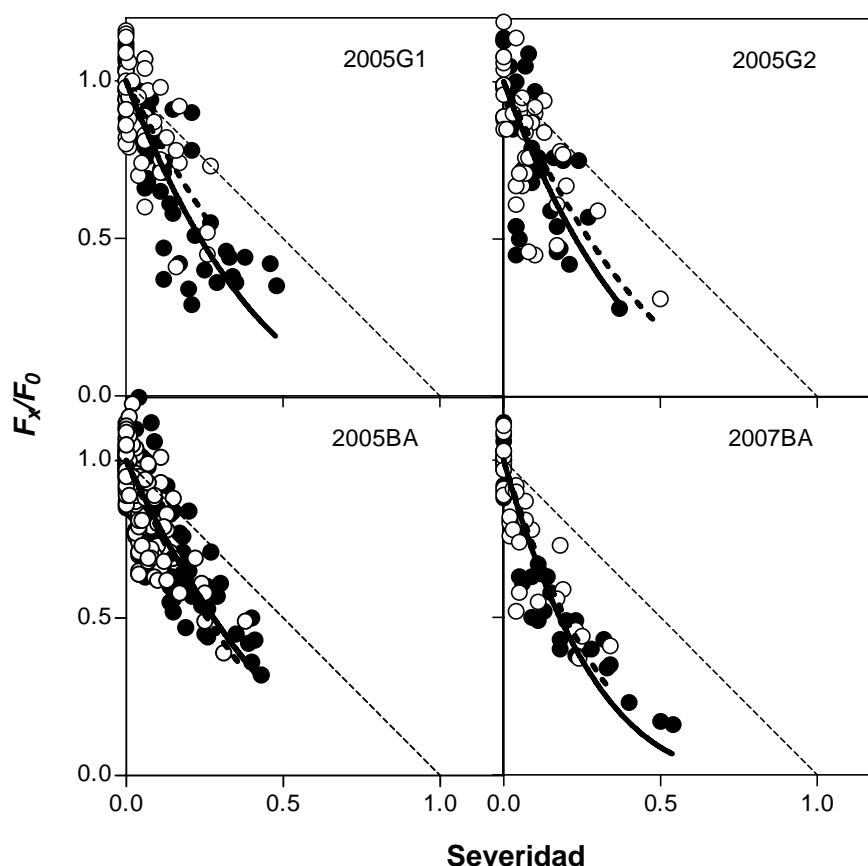


Figura 4.2.: Tasa de fotosíntesis relativa (F_x/F_0) en relación a la severidad de roya de la hoja (proporción) para diferentes experimentos (años, sitios y fechas de siembra) y para ambos tratamientos de nitrógeno: N0 (símbolos vacíos) y N1 (símbolos llenos). El modelo de Bastiaans ajustado a los datos de los tratamientos N0 y N1 está representado por las curvas punteada y continua, respectivamente. La línea diagonal punteada indica la relación 1:1. La estimación de los parámetros del modelo ajustado se muestra en la Tabla 4.1.

4.3.3. Parámetros de la curva de respuesta fotosíntesis-radiación

El principal efecto de la roya de la hoja sobre la tasa de fotosíntesis neta (F_{neta}) estuvo mediado a través de una reducción de la tasa de fotosíntesis bruta (F_{bruta}) y debido a un incremento de la tasa respiratoria (R), no detectándose efectos del patógeno sobre la eficiencia cuántica aparente (ϵ) (Figura 4.3). Los valores de β estimados para la F_{bruta} ($\beta_{\text{bruta}} = 2.86 \pm 0.19$) fueron significativamente menores ($p < 0.05$, t-test con $gl=138$) respecto de los estimados para la F_{neta} ($\beta_{\text{neta}} = 3.56 \pm 0.22$) sugiriendo que la tasa respiratoria se incrementó como consecuencia de la infección con roya incrementando los valores de β_{neta} . Sin embargo, los valores de β_{bruta} fueron significativamente mayores que 1.0 ($p < 0.0001$, t-test con $gl=70$) demostrando que la F_{bruta} fue reducida en el área foliar verde remanente de las hojas enfermas. De hecho, cuando se consideró solo el área verde para realizar las estimaciones de fotosíntesis, la F_{bruta} de las hojas enfermas mostró un valor de $14.8 \pm 0.46 \mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ de área verde s}^{-1}$ (como promedio de todos los datos) siendo significativamente menor que la F_{bruta} de las hojas sanas cuyo valor promedio fue de $20.9 \pm 0.69 \mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ de área verde s}^{-1}$ ($p < 0.001$, t-test con $gl=69$).

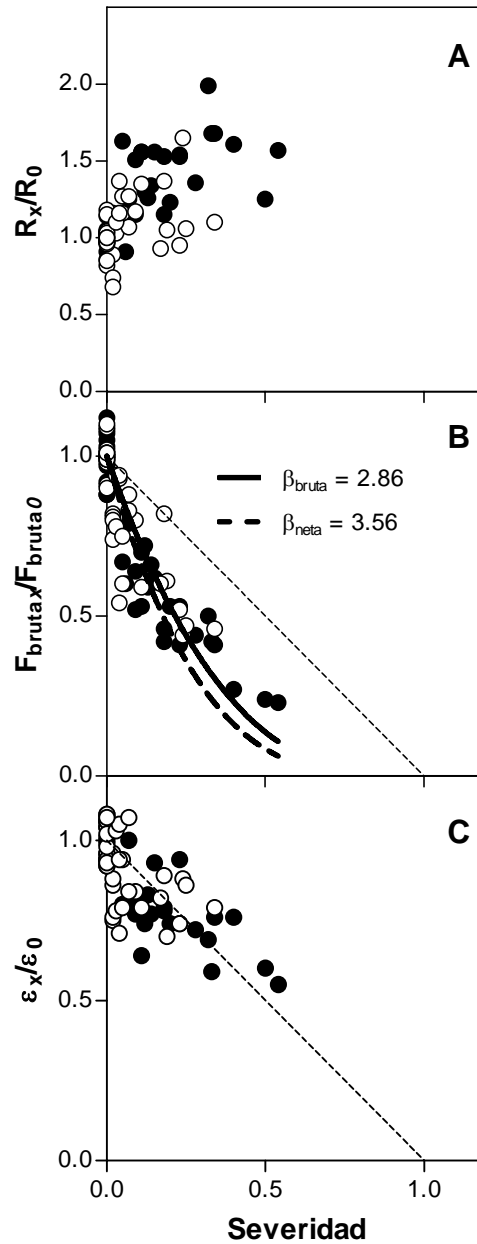


Figure 4.3.: (A) Tasa de respiración relativa (R_x/R_0); (B) Fotosíntesis bruta máxima relativa (F_{brutax}/F_{bruta0}) y (C) Eficiencia cuántica aparente relativa (ϵ_x/ϵ_0) en relación a la severidad de roya de la hoja (proporción). Símbolos vacíos y llenos indican los tratamientos N0 y N1, respectivamente. El modelo de Bastiaans ajustado a los datos de la tasa de fotosíntesis neta máxima y a la tasa de fotosíntesis bruta máxima está representado por las curvas punteada y continua, respectivamente. La línea diagonal punteada representa la relación 1:1. Datos provenientes del ajuste de la ecuación 4.2 a los datos del experimento 2007BA.

La tasa respiratoria (R) de las hojas enfermas se incrementó hasta un 200% respecto de las hojas sanas (Figura 4.3A). Así, la R del área foliar verde de las hojas enfermas fue en promedio significativamente mayor ($2.1 \pm 0.13 \mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2}$ de área

verde s^{-1}) que el de las hojas sanas ($1.4 \pm 0.08 \mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2}$ de área verde s^{-1}) ($p < 0.001$, t-test con $gl=69$). A su vez, la R del área foliar verde de hojas enfermas fue mayor en hojas con alto ($2.6 \pm 0.18 \mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2}$ de área verde s^{-1}) que con bajo ($1.6 \pm 0.12 \mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2}$ de área verde s^{-1}) contenido de N ($p < 0.001$, t-test con $gl=44$), esto también se observa en la figura 4.3 A. Sin embargo, al comparar los efectos de la roya de la hoja sobre la F_{bruta} y la R, ambos componentes determinantes de la F_{neta} , el incremento absoluto de la R (en promedio $0.7 \mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2}$ de área verde s^{-1}) fue sustancialmente menor que la reducción absoluta de la F_{bruta} (en promedio $6.1 \mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2}$ de área verde s^{-1}), sugiriendo esto que el principal efecto de la roya de la hoja fue sobre la maquinaria fotosintética más que sobre la tasa respiratoria. Por último, no se observaron diferencias significativas en la eficiencia cuántica aparente (ϵ) del área verde remanente de hojas enfermas respecto de las hojas sanas (Figura 4.3C), decreciendo ϵ_x/ϵ_0 de manera proporcional a los incrementos de severidad. De hecho, la ϵ estimada considerando solo el área foliar verde remanente de hojas enfermas fue de $0.0538 \pm 0.00069 \mu\text{mol de CO}_2 \mu\text{mol fotones}^{-1}$ y no difirió significativamente ($p > 0.1$, t-test con $gl=69$) de la ϵ de las hojas sanas cuyo valor fue de $0.0564 \pm 0.00130 \mu\text{mol de CO}_2 \mu\text{mol fotones}^{-1}$.

4.3.4. Efectos de la enfermedad sobre los atributos determinantes de la fotosíntesis

El amplio rango de condiciones ambientales explorado con los diferentes sitios, años, fechas de siembra y fechas de muestreo determinaron la exploración un amplio rango de conductancia estomática (g_s) (Figura 4.4A). En este sentido, se observaron menores valores de g_s en Grignon (Francia) respecto de Buenos Aires (Argentina) siendo a su vez mayor el rango de g_s explorado en este último sitio que en Grignon. Mientras en Grignon no se superaron valores de g_s de $0.5 \text{ moles de H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ en Buenos Aires se exploró un amplio rango alcanzando valores cercanos a $1.5 \text{ moles de H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. La roya de la hoja redujo la g_s del área verde remanente de hojas enfermas en aquellas situaciones en las que se exploraron valores de dicha variable mayores a $1 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2}$ de área verde s^{-1} en ambos tratamientos de nitrógeno (Figura 4.4B) ($p < 0.05$, t-test), no encontrándose diferencias significativas entre hojas sanas y enfermas para valores menores de g_s (i.e. g_s de hojas sanas menores a $1 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2}$ de área verde s^{-1}).

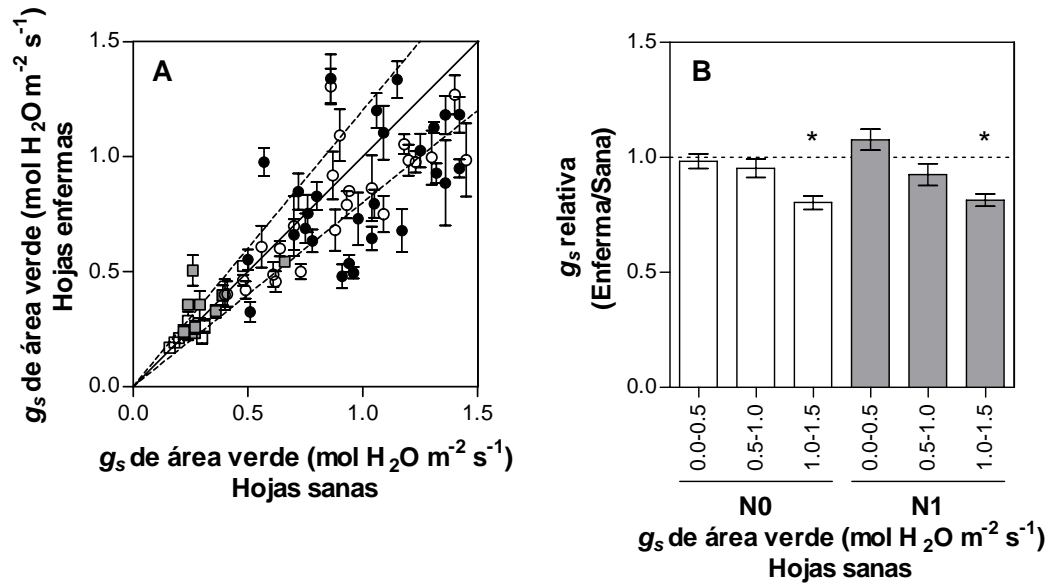


Figura 4.4.: (A) Conductancia estomática (g_s) del área verde de hojas enfermas en relación a hojas sanas para todos los experimentos (2005G1 y 2005G2: cuadrados; 2005BA y 2007BA: círculos) y para baja (símbolos abiertos) y alta (símbolos llenos) disponibilidad nitrogenada. La línea diagonal llena representa la relación 1:1 entre variables y las líneas punteadas indican el límite del 20% superior e inferior respecto de la relación 1:1. Las barras verticales indican el error estándar. (B) Conductancia relativa (i.e. g_s del área verde de hojas enfermas / g_s de hojas sanas, ambas medidas cercanas en el tiempo). Para diferentes rangos de g_s de hojas sanas y para condiciones de baja (barras vacías) y alta (barras llenas) disponibilidad de nitrógeno. Las barras verticales indican el error estándar. Los asteriscos indican diferencia significativa ($p < 0.05$) respecto de 1.

Por su parte, la concentración interna de CO_2 (C_i) fue relacionada con la g_s (considerando solo el área verde remanente) para hojas sanas y para hojas enfermas con diferente grado de severidad (Figura 4.5). Estos datos fueron ajustados a una función exponencial con asíntota con la forma $y = a - b \cdot \exp(-c \cdot x)$, donde a representa el máximo valor de C_i factible de ser alcanzado bajo condiciones de no limitación por g_s . Los coeficientes de determinación de las curvas ajustadas para estas variables variaron entre 0.35 y 0.89.

En ambos tratamientos de nitrógeno, los incrementos de severidad causaron aumentos cada vez mayores de los valores de a de las hojas enfermas respecto de las sanas, determinando así mayores valores de C_i en las hojas enfermas respecto de las sanas para aquellas situaciones donde la g_s no limitó la difusión de CO_2 (Figura 4.5) ($p < 0.05$ según t-test en seis de ocho situaciones). A su vez, la mayoría de los puntos de la relación C_i - g_s (variables calculadas para el área verde) se ubicaron por encima de la curva ajustada para las hojas sanas, siendo más evidente esta tendencia cuanto mayor fue la severidad. Así, al comparar para un mismo nivel de g_s , las hojas enfermas mostraron mayores valores de C_i que las hojas sanas. Este tipo de comportamiento sugiere que parte de la reducción causada por roya de la hoja en la F_{max} estuvo mediada por efectos en procesos no estomáticos.

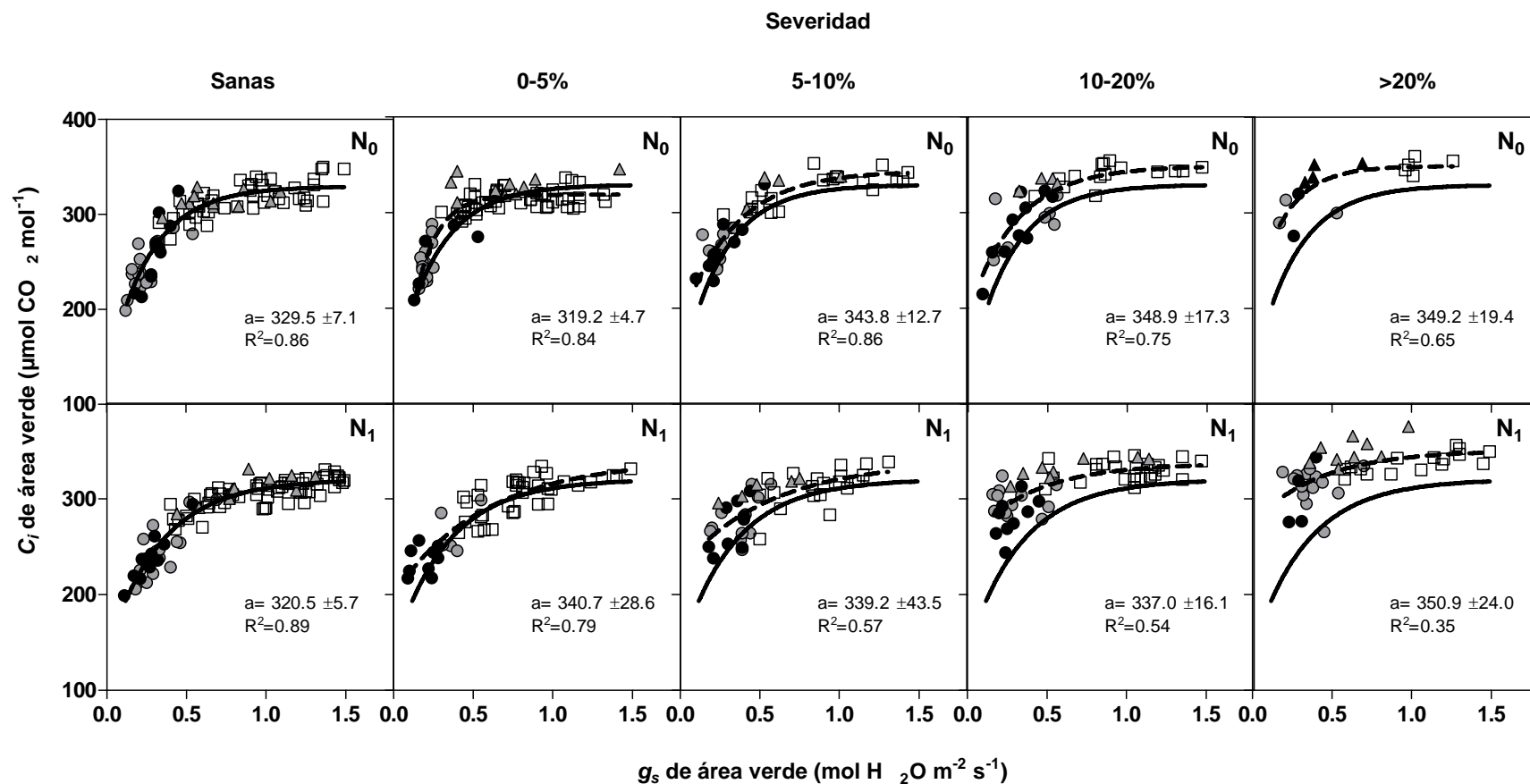


Figura 4.5.: Concentración interna de CO_2 (C_i) en relación a la conductancia estomática (g_s) del área foliar verde considerando los datos de todos los experimentos (2005G1: círculos grises; 2005G2: círculos negros; 2005BA: cuadrados vacíos; 2007BA: triángulos grises) dentro de cada tratamiento de N (N_0 y N_1). Los datos de las hojas enfermas se agruparon de acuerdo con cuatro rangos de severidad (0-5%; 5-10%; 10-20% y mayor de 20%) y se ajustaron al modelo $y = a - b \cdot \exp(-c \cdot x)$ (curvas punteadas). Los datos de las hojas sanas fueron ajustados al mismo modelo (curvas continuas). Para permitir la comparación, las curvas ajustadas por las hojas sanas (curvas continuas) se repiten en todos los gráficos de hojas enfermas para cada tratamiento de N. El parámetro a estimado (\pm medio intervalo de confianza, 95%), el cual indica el máximo valor de C_i posible de ser alcanzado bajo condiciones de no limitación por g_s se muestra en cada gráfico.

En el experimento 2007BA se observó una fuerte relación entre la F_{\max} y las lecturas de SPAD en las porciones verdes de las hojas, con coeficientes de determinación de 0.63 y 0.71 para los tratamientos N0 y N1, respectivamente; no existiendo diferencia significativa ($p=0.35$, t-test con $gl=86$) entre ambos tratamientos de N para la pendiente de la regresión lineal ajustada (Figura 4.6). Los valores de unidades SPAD de las hojas enfermas fueron de 26.4 ± 0.98 para el tratamiento N0 y de 27.6 ± 1.05 para el tratamiento N1, siendo significativamente menores ($p<0.01$, t-test con $gl=38$ y $gl=48$ para los tratamientos N0 y N1, respectivamente) que aquellos valores registrados en las hojas sanas. A su vez, los valores de SPAD de hojas sanas del tratamiento N1 (38.6 ± 0.41) fueron significativamente mayores que los observados en hojas sanas del tratamiento N0 (32.0 ± 0.83) ($p<0.01$, t-test con $gl=36$). Estos resultados refuerzan la idea expuesta previamente que la roya de la hoja podría reducir la F_{\max} a través de procesos diferentes a la conductancia estomática, probablemente reducciones de clorofila.

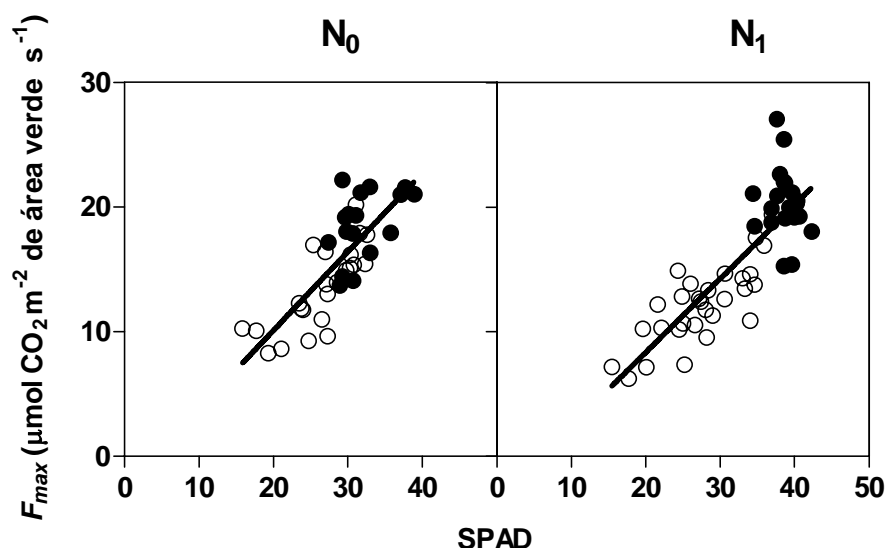


Figura 4.6.: Fotosíntesis neta máxima del área verde (F_{\max}) en relación a las unidades SPAD del área verde para los tratamientos N0 y N1 del experimento 2007BA. Los símbolos vacíos y llenos indican hojas enfermas y sanas, respectivamente. Se muestra la línea de ajuste lineal para ambos set de datos.

4.4. Discusión

Es importante resaltar que los resultados mostrados en el presente capítulo fueron obtenidos de plantas crecidas bajo condiciones de campo recibiendo diferentes dosis de fertilización nitrogenada, en diferentes sitios, fechas de siembra y para hojas de diferentes edades. Así, y tal como fue indicado anteriormente, este estudio permitió analizar los efectos de la roya de la hoja sobre fotosíntesis de hoja y las variables relacionadas con este atributo para un amplio rango de condiciones climáticas y edáficas (fertilidad y sitios) otorgándole robustez a las conclusiones extraídas. El amplio rango de temperatura (18.5 a 31.0 °C) y de DPV (0.45 a 1.78 kPa) explorados (pero sin diferencias entre las hojas sanas y enfermas que fueron comparadas para sus valores de fotosíntesis) permitió determinar el efecto genuino de la roya de la hoja sobre la tasa de

fotosíntesis foliar encontrándose importantes diferencias para dicho atributo entre hojas sanas y enfermas expuestas a similares condiciones ambientales. Los valores de F_{\max} de hojas sanas observados en este estudio (11.0 a 32.3 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) estuvieron dentro del rango de valores citados en la literatura para hojas de trigo (Evans, 1983; Robert et al., 2005; Robert et al., 2006)

El parámetro β del modelo propuesto por Bastiaans (1991) indica la relación entre las lesiones virtuales y las visuales. De acuerdo con esta aproximación la F_{\max} del área verde de una hoja enferma es reducida cuando el valor de β estimado es mayor a uno. En este sentido, los resultados del presente estudio mostraron que la roya de la hoja redujo la F_{\max} del área verde de las hojas enfermas dado que los valores de β observados fueron significativamente mayores a uno. Valores de β similares a los observados en el presente trabajo fueron encontrados en hojas de poroto (*Phaseolus vulgaris*) afectadas por roya (*Uromyces appendiculatus*) siendo estos valores de 2.2 (Bassanezi et al., 2001); mientras que valores entre 0.88 y 1.54 fueron observados por Lopes y Berger (2001) para el mismo patosistema (poroto-roya). Del mismo modo, Kumudini et al., (2008a) observaron que la presencia de roya de la soja (*Phakopsora pachyrhizi*) redujo la F_{\max} del área verde remanente de hojas enfermas. Otras evidencias reportan valores de β para patógenos biotróficos que afectan el trigo de 8.74 para oídio (*Erysiphe graminis*) y de 1.26 para roya de la hoja, siendo este último no significativamente diferente de uno (Bastiaans, 1991).

La magnitud de los efectos de las enfermedades sobre la tasa de fotosíntesis del área verde remanente de una hoja enferma puede ser variable según (i) el estado de desarrollo del patógeno (Scholes y Farrar, 1986; Scholes y Rolfe, 1996; Robert et al., 2005) y/o (ii) el tipo de síntoma que es considerado como área foliar enferma (Robert et al., 2005). En relación a cuáles son los síntomas considerados, Robert et al. (2005) observaron que los valores de β de hojas de trigo afectadas por roya de la hoja, durante el período de esporulación del patógeno, variaron entre 2.0 a 11.0, 1.4 a 2.0 y 0.8 a 1.0 cuando se consideró (i) solo la proporción del área con esporas; (ii) el área con esporas más el área necrótico y (iii) el área con esporas más el área necrótico y clorótico, respectivamente. Los valores de β obtenidos en el presente trabajo fueron levemente superiores a los observados por Robert et al. (2005) cuando estos consideraron solo el área con esporas más el necrótico. Estos mayores valores, probablemente, pudieron deberse a que en el presente estudio no se observaron lesiones necróticas (para las cuales es esperable valores de β cercanos a uno) en ninguna de las hojas medidas, estando las lesiones formadas por área con esporas y tejido clorótico. Por otro lado, tal como los citados autores sugieren y tal como fue demostrado por Scholes y Farrar (1986) para hojas de cebada infectadas por roya de la hoja (*Puccinia hordei*) y por Scholes y Rolfe (1996) para hojas de avena infectadas por roya de la hoja (*Puccinia coronata*), la tasa de fotosíntesis del halo clorótico rodeando las pústulas es reducida pero no por completo. Así, dependiendo de la proporción de este halo (el cual va desde el amarillo hasta el verde claro) que sea considerado como área enferma, las estimaciones de β pueden ser sustancialmente diferentes, explicando esto las diferencias de los resultados encontrados en la literatura.

Si bien los resultados de esta tesis demuestran efectos negativos similares de la roya de la hoja sobre la F_{\max} del área foliar verde remanente en dos cultivares de trigo diferentes, tales conclusiones deberían ser verificadas en otros cultivares. Sin embargo, Bastiaans y Roumen (1993) tampoco encontraron efectos diferenciales de *Pyricularia oryzae* sobre la F_{\max} del área verde entre los 3 cultivares de arroz que estudiaron.

Tampoco Bassanezi et al. (2001) encontraron diferencias entre dos cultivares de poroto común (*Phaseolus vulgaris*) para ninguna de las tres enfermedades que evaluaron: roya (*Uromyces appendiculatus*), mancha angular (*Phaeoisariopsis griseola*) y antracnosis (*Colletotrichum lindemuthianum*).

Distintas evidencias de la literatura documentan el efecto de la concentración de nitrógeno de las hojas sobre la tasa de fotosíntesis de las mismas (Evans, 1983; Sinclair y Horie, 1989; Connor et al., 1993). En este sentido, y a diferencia de lo encontrado por Robert et al. (2005), los valores de F_{\max} observados para el tratamiento de alta disponibilidad de nitrógeno fueron significativamente mayores que los observados para el tratamiento de baja disponibilidad. Sin embargo, similar a lo encontrado por Robert et al. (2005), las estimaciones de β no fueron significativamente diferentes entre tratamientos de nitrógeno. A pesar de no existir diferencias estadísticas, los valores de β fueron consistentemente mayores en el tratamiento N1 respecto del N0 en tres de cuatro experimentos. Considerando que la reducción de la F_{\max} del área sana de hojas enfermas es mayor para el área con esporas que para el área clorótica (Robert et al., 2005), es esperable que mayores valores de β sean encontrados cuando mayor proporción de área con esporas sea observado. En este sentido, en el presente estudio la proporción de área con esporas representó el $30.5 \pm 1.2\%$ en el tratamiento N0 y el $47.7 \pm 1.3\%$ en el tratamiento N1, siendo esta diferencia significativa en términos estadísticos ($p < 0.001$). Así, es posible sugerir que los mayores valores de β observados en el tratamiento N1 respecto del N0 fueron, probablemente, consecuencia de diferencias en la proporción de área con esporas y clorótico promovida por la enfermedad.

Las enfermedades foliares pueden reducir la tasa de fotosíntesis neta a través de reducciones de la tasa de fotosíntesis bruta o de incrementos de la tasa de respiración. En estudios previos se han observado incrementos de la tasa respiratoria como consecuencia de diferentes royas foliares (Scholes y Farrar, 1986; Bethenod et al., 2001; Lopes y Berger, 2001; Bassanezi et al., 2002; Kumudini et al., 2008a) o de otros patógenos biotróficos como el oídio (Rabbinge et al., 1985). Las mayores tasas respiratorias, debido a la infección con roya de la hoja, encontradas en el presente estudio pueden haber sido consecuencia de incrementos en la tasa de respiración del hospedante (la hoja de trigo) (Scholes y Farrar, 1986; Lopes y Berger, 2001; Bassanezi et al., 2002; Kumudini et al., 2008a) o puede haber sido causada por la propia respiración del patógeno (Owera et al., 1981).

Los resultados encontrados en esta tesis mostraron claramente que, si bien la roya de la hoja incrementó la tasa respiratoria, las reducciones de la fotosíntesis neta se debieron principalmente a reducciones de la tasa de fotosíntesis bruta a saturación lumínica no encontrándose efectos del patógeno sobre la eficiencia cuántica aparente (i.e. fotosíntesis a bajos niveles de radiación). De hecho, el incremento absoluto de la tasa respiratoria debido a la infección con roya fue insignificante al compararlo con la reducción absoluta de la tasa de fotosíntesis bruta.

La ausencia de efecto de la roya de la hoja sobre la eficiencia cuántica aparente sugiere que la fotosíntesis foliar a bajos niveles de radiación no fue afectada por el patógeno lo cual tiene importantes implicancias a nivel de cultivo. Dado que ocurre atenuación lumínica dentro del canopeo (Dreccer et al., 2000) y que el ángulo de incidencia solar cambia a lo largo del día, las hojas del cultivo no se encuentran continuamente expuestas a saturación lumínica sino que exploraran diferentes intensidades de radiación (Horton, 2000). Así, la eficiencia de uso de la radiación del

cultivo sería menos afectada que la F_{\max} a nivel de hoja lo cual concuerda con la falta de efecto de la roya de la hoja sobre la eficiencia de uso de la radiación observada en trabajos previos y en el Capítulo 4 de esta tesis (Bancal et al., 2007; Serrago et al., 2009; Carretero et al., 2010). Estos resultados también concuerdan con los datos simulados de Rabbinge et al. (1985) los cuales mostraron que la tasa de asimilación bruta de un cultivo de cebada fue menos reducida por la infección con oídio (*Erysiphe graminis*) que la F_{\max} , debido a la ausencia de efecto del patógeno sobre la eficiencia cuántica aparente.

Con respecto a la tasa de fotosíntesis bruta, las enfermedades pueden reducir la misma por: (i) efectos sobre la difusión de CO_2 dentro de la hoja (reducción de la conductancia estomática) o (ii) efectos sobre los procesos bioquímicos (procesos no-estomáticos) tales como la captura de energía por los fotosistemas (reducciones de la concentración de clorofila), la cadena de transporte de electrones y la carboxilación. En relación a la difusión de CO_2 (procesos estomáticos), se observó que el patógeno vascular *Verticillium dahliae* causó reducciones de la conductancia estomática en hojas de papa (*Solanum tuberosum*) (Bowden et al., 1990; Haverkort et al., 1990), algodón (*Gossypium hirsutum*) (Hampton et al., 1990), y coliflor (*Brassica oleracea*) (Xiao y Subbarao, 1998). Del mismo modo, Lopes y Berger (2001) observaron que el patógeno necrotrófico *Colletotrichum lindemuthianum* (causante de antracnosis) redujo la conductancia estomática de hojas de poroto (*Phaseolus vulgaris*). Por otra parte, diferentes evidencias de la literatura reportan reducciones de la tasa de fotosíntesis por patógenos foliares que pueden atribuirse a efectos sobre procesos no-estomáticos. En este sentido, Lopes y Berger (2001) encontraron que la resistencia a la carboxilación se incrementó en hojas de poroto infectadas por roya (*Uromyces appendiculatus*), similar a lo observado por Bastiaans (1993) trabajando con hojas de arroz (*Oryza sativa*) infectadas por *Pyricularia oryzae* (quemado del arroz). Por su parte, Erickson et al. (2003) especulan que la causa más probable de inhibición de fotosíntesis parece ser la destrucción del aparato fotosintético o la interferencia en los pasos metabólicos de la fotosíntesis en híbridos de álamo afectados por *Marssonina brunnea* un patógeno necrotrófico causante de mancha foliar.

Los resultados de este trabajo mostraron la conductancia estomática (considerando solo el área foliar verde) fue menor en hojas enfermas que en hojas sanas pero solo en aquellas situaciones en que se exploraron altos valores de conductancia estomática (i.e. mayores a $1 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2}$ de área verde s^{-1} , solo explorados en los experimentos de Argentina). Es decir, la g_s fue menor en hojas enfermas respecto de hojas sanas solo en aquellas situaciones en que dicha variable no resultó una limitación para la entrada de CO_2 a la cámara sub-estomática y por ello tampoco lo fue para la fotosíntesis. Por otro lado, cuando se hicieron comparaciones para iguales niveles de conductancia foliar, se observaron mayores niveles de concentración interna de CO_2 en las hojas enfermas respecto de las sanas. Este comportamiento sugiere que la reducción de la tasa de fotosíntesis causada por el patógeno fue mediada principalmente por efectos en procesos no-estomáticos como: (i) reducción de clorofila (i.e. reducción de captura de luz); (ii) efectos sobre la cadena de transporte de electrones; o (iii) reducción de la cantidad o eficiencia de la enzima Rubisco (ribulosa-1,5-bifosfato carboxilasa/oxigenasa) o enzimas involucradas en la fijación de CO_2 . El disturbio de alguno de estos procesos o eventos podría haber originado un incremento de la concentración de CO_2 en la cavidad sub-estomática observada en este trabajo. También el aumento de la tasa respiratoria pudo haber incrementado dicha concentración de CO_2 ,

sin embargo, tal como se comentó anteriormente el incremento de la respiración debido a la enfermedad fue insignificante comparado con la reducción de la fotosíntesis bruta.

Con respecto a los eventos de fotosíntesis propiamente dichos (eventos no-estomáticos), distintas evidencias de la literatura mostraron que la eficiencia de carboxilación, la cual depende de la cantidad y eficiencia de la Rubisco, fue reducida por oídio (*Erysiphe graminis*) en hojas de trigo (Rabbinge et al., 1985) y cebada (Walters y Ayres, 1984). Del mismo modo, mediante mediciones sobre plantines de trigo, Bethenod et al. (2001) observaron que la F_{neta} de hojas enfermas con roya de la hoja se redujo como consecuencia de efectos sobre procesos no-estomáticos siendo errático el comportamiento de los estomas. Por otra parte, las reducciones de la fotosíntesis en hojas de soja infectadas con roya (*Phakopsora pachyrhizi*) estuvieron altamente asociadas con reducciones en la tasa de transporte de electrones debido a efectos sobre la actividad del fotosistema II (Kumudini et al., 2008a). Otras evidencias de la literatura muestran que la pérdida de clorofila fue el principal factor que contribuyó a la reducción de la fotosíntesis en hojas de cebada infectadas por roya (*Puccinia hordei*) (Scholes y Farrar, 1986). Se observaron también reducciones de clorofila en hojas de trigo infectadas por *Septoria tritici* (Zuckerman et al., 1997). De hecho, en el presente trabajo, se observaron reducciones importantes de unidades SPAD en tejido visualmente sano de hojas enfermas en comparación al de hojas sanas sugiriendo que la roya de la hoja podría reducir la tasa de fotosíntesis del área verde remanente de hojas enfermas a través de reducciones de la concentración de clorofila. Deberían conducirse estudios futuros para determinar con más precisión cuál de los procesos no-estomáticos mencionados son afectados por la roya de la hoja en hojas de trigo.

4.4.1. Conclusiones

Los resultados de este capítulo mostraron que la roya de la hoja redujo la fotosíntesis neta máxima (a saturación lumínica), sin encontrarse efectos diferenciales asociados a la distinta condición nitrogenada. Tales reducciones se debieron principalmente a disminuciones en la tasa de fotosíntesis bruta, siendo comparativamente insignificantes los incrementos de la tasa respiratoria (ambas variables determinantes de la fotosíntesis neta). No se observaron efectos sobre la eficiencia cuántica aparente. Si bien el patógeno redujo la conductancia foliar, tal efecto solo se observó para altos valores de conductancia, es decir, para situaciones en que la misma no limitaba la entrada de CO_2 y por consiguiente tampoco la fotosíntesis. Se encontró una fuerte asociación entre la F_{max} y lecturas de SPAD siendo menores los valores de SPAD del área verde en hojas enfermas respecto de los observados en hojas sanas. Esto sugiere, que la reducción de la tasa de fotosíntesis del área verde de hojas enfermas podría deberse a reducciones en el contenido de clorofila del área verde y no a reducciones de la conductancia.

CAPÍTULO 5

Discusión General

5.1. Contexto de la problemática abordada

Como fue descripto en los capítulos anteriores de esta tesis, las enfermedades foliares provocan importantes mermas en el rendimiento del cultivo de trigo tanto a nivel país como a nivel mundial. En la región triguera argentina las decisiones de control de estas enfermedades están basadas en la utilización de umbrales de daño económico (UDE) el cual indica el nivel de enfermedad a partir del cual el control químico se justifica económicamente. Estos umbrales se construyen a partir de funciones del tipo empíricas (Mumford y Norton, 1984) que relacionan el nivel de enfermedad (severidad o incidencia) con la merma de rendimiento provocada por la misma considerándose además, el precio del grano, el precio del producto fungicida y la eficiencia de control de dicho fungicida. Tales funciones son en general relaciones lineales y se seleccionan por tener un buen ajuste a los datos más que por su significado biológico (Madden et al., 1981). Además, estas funciones solo consideran el nivel de enfermedad presente en el cultivo y se construyen para determinadas condiciones (genotipo, año, localidad, condiciones de manejo, etc.) no contemplando las principales variables ecofisiológicas que hacen a la generación de biomasa y rendimiento del cultivo, por lo que su predictibilidad es muy variable al extrapolarlas a otras condiciones, restringiendo su uso universal. En este sentido, numerosos trabajos demuestran la variabilidad existente en la reducción de rendimiento originada por similares niveles de enfermedad al considerarse diferentes condiciones agronómicas y ambientales, tanto para el cultivo de trigo (Bryson et al., 1997; Paveley et al., 1997; Simón et al., 2002) como para muchos otros cultivos (Madden et al., 1981; Thomas et al., 1989; Bergamin Filho et al., 1997; Jesus Junior et al., 2001; Jesus Junior et al., 2003; Reis et al., 2006). Considerando estos aspectos, una aproximación funcional que considere todas las variables del sistema bajo estudio principalmente aquellos procesos ecofisiológicos que hacen a la producción de biomasa y rendimiento permitiría mejorar el grado de predictibilidad y extrapolabilidad de los modelos actualmente en uso para la estimación de mermas de rinde como consecuencia de la presencia de enfermedades en un cultivo. Por ello, la presente tesis tuvo como objetivo general *“Estudiar el impacto del complejo de enfermedades foliares presentes en el cultivo de trigo (e.g. roya de la hoja, mancha amarilla y septoriosis de la hoja) sobre los componentes ecofisiológicos de generación de biomasa (i.e. eficiencia de intercepción de radiación, eficiencia de absorción de radiación y eficiencia de uso de radiación) durante el período de llenado de granos”*.

5.2. Variables ecofisiológicas determinantes de la producción de biomasa: ¿Cómo son afectadas por las enfermedades foliares?

El impacto de las enfermedades foliares sobre las variables que determinan la generación de biomasa a escala de canopeo se resumen en forma de diagrama en la Figura 5.1, en el cual se detalla el efecto de las enfermedades en cada una de las variables correspondientes y en las relaciones funcionales entre dichas variables.

Los resultados descriptos en el Capítulo 3 demostraron claramente que las enfermedades foliares del trigo afectaron principalmente la captura de radiación sin un

efecto claro sobre la EUR, en línea con lo observado por trabajos previos realizados para enfermedades foliares en el cultivo de trigo (Bancal et al., 2007; Serrago et al., 2009). En este sentido, las enfermedades redujeron la captura de radiación a través de dos vías diferentes: i) por reducciones del IAF total del cultivo, es decir, por incremento en la muerte y senescencia de las hojas (HTS-hojas totalmente senescidas) lo cual lleva a una reducción en la eficiencia de intercepción de radiación (E_i) y; ii) por reducciones del IAF verde (de hojas vivas) debido a la cobertura del área foliar con lesiones, es decir, incrementos del IAFnv lo cual origina que parte de la radiación interceptada no sea absorbida por tejido sano reduciéndose así la eficiencia de absorción de radiación (E_a) (Figura 5.1).

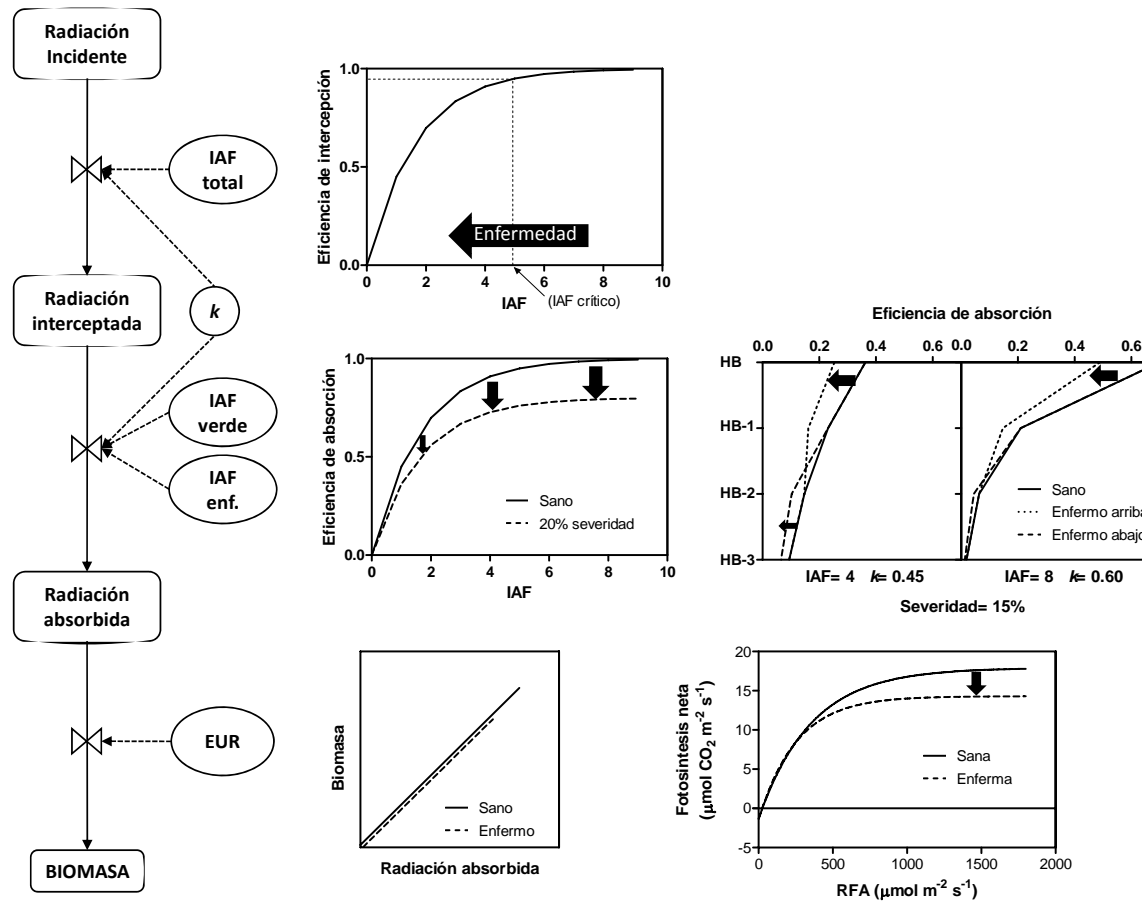


Figura 5.1.: Diagrama simplificado que muestra las principales variables ecofisiológicas que determina la generación de biomasa del cultivo. Se muestran las relaciones funcionales entre dichas variables (gráficos) y el efecto causado por las enfermedades foliares en las mismas (flechas negras). RFA: radiación fotosintéticamente activa. En la tesis este modelo fue validado para el periodo de llenado

Las enfermedades redujeron entonces, el IAF del cultivo y con ello la intercepción de radiación. Sin embargo, el impacto de las enfermedades sobre la Ei dependió del nivel de IAF alcanzado por el cultivo, siendo importante solo cuando el mismo cayó por debajo de su valor crítico. Por lo tanto, estos resultados permiten aceptar la primera hipótesis planteada en esta tesis: *“Las enfermedades foliares reducen el IAF del cultivo de trigo por senescencia y caída de hojas y; debido al tipo de relación entre esta variable y la eficiencia de intercepción de radiación, la reducción en la intercepción de radiación es mayor en cultivos con IAF cercanos al crítico o menores a este”*. La relación curvilínea existente entre la Ei y el IAF (Hipps et al., 1983) determina que ante un mismo nivel de reducción de IAF debido a enfermedades foliares se produzcan mayores reducciones en la Ei en los cultivos con menores niveles de cobertura (IAF), respecto de aquellos con mayores valores de IAF (Figura 5.1). Estos resultados demuestran entonces, que para enfermedades que produzcan muerte o caídas de hojas (como ocurre en muchas leguminosas por ejemplo) debería considerarse que tan lejos se encuentra el IAF alcanzado respecto de su valor crítico a la hora de determinar su impacto sobre la Ei. Así, cultivos con IAF que exceden el nivel de cobertura crítico podrán perder parte de sus hojas debido a las enfermedades sin que ello determine una caída en los niveles de intercepción.

Por otra parte, las enfermedades foliares no solo redujeron el IAF total, sino que también redujeron el IAFv debido a la presencia de lesiones (incrementos del IAF enfermo). A diferencia de lo que ocurre con los insectos que consumen tejido, las enfermedades foliares cubren tejido foliar con lesiones (o incrementan el área senescente) las cuales interceptan radiación que no puede ser utilizada por tejido sano para la generación de fotoasimilados (Bastiaans y Kropff, 1993). En este sentido, y a diferencia de lo señalado para el IAF total, las reducciones del IAFv (incrementos del IAFnv) generan reducciones de la Ea aún en situaciones de cultivo en las que el IAF logrado supere el valor crítico (Figura 5.1).

Otro aspecto importante a considerar en relación con el impacto de las enfermedades sobre la absorción de radiación es el estrato foliar, vinculado a su posición vertical dentro del canopeo, que es afectado por las enfermedades (Béasse et al., 2000; Robert et al., 2004; Bancal et al., 2007). En el caso de los cereales invernales, las hojas superiores del cultivo son las que interceptan la mayor parte de la radiación incidente sobre el cultivo y por consiguiente las que aportan la mayor proporción de fotoasimilados a la espiga en crecimiento (Lupton, 1972; Gooding et al., 2000; Verreet y Klink, 2002; Robert et al., 2004) (Figura 5.1). Los resultados de este trabajo mostraron que las enfermedades foliares redujeron en primera instancia el IAFv de los estratos inferiores para luego afectar los superiores. Por lo tanto, la absorción de radiación no fue reducida significativamente hasta que las enfermedades foliares no afectaron los estratos superiores hacia mediados de llenado. Estos resultados permiten aceptar la segunda hipótesis planteada: *“Las reducciones en la absorción de radiación como consecuencia de la presencia de enfermedades foliares son mayores en aquellas situaciones en que las mismas aparecen en las hojas superiores respecto de aquellas en que aparecen en las hojas inferiores del canopeo, debido al mayor impacto en la absorción de radiación de los estratos superiores”*.

Los estratos foliares superiores fueron afectados en mayor medida por roya de la hoja, mientras que los patógenos necrotróficos afectaron principalmente los estratos foliares inferiores. Estos resultados son claramente consecuencia de la forma de dispersión de cada patógeno. Mientras que la esporas de los patógenos necrotróficos

(e.g. Mancha amarilla-*Drechslera tritici-repentis* y Mancha foliar-*Septoria tritici*) se dispersan principalmente desde el rastrojo en la superficie del suelo hacia las hojas inferiores y luego de estas a las superiores (Verreet y Klink, 2002; Duveiller et al., 2005), las esporas de *P. triticina* (roya de la hoja) son livianas y transportadas por el viento desde grandes distancias depositándose las mismas en mayor medida sobre las hojas superiores del cultivo (Eversmeyer et al., 1973; Eversmeyer y Kramer, 1992). Como consecuencia de esto, y de lo explicado en el párrafo anterior, las reducciones de la absorción de radiación fueron mayores en aquellas situaciones en que la roya de la hoja fue la principal enfermedad afectando al cultivo. En general, la roya de la hoja predominó en aquellas situaciones en las que el cultivo tuvo mayor contenido de nitrógeno foliar, en línea con lo encontrado por trabajos previos (Tiedemann, 1996; Robert et al., 2002).

La contribución relativa de los estratos inferiores a la absorción de radiación es variable según el nivel de IAF alcanzado por el cultivo y/o con la arquitectura del canopeo (valor de k). Así en un artículo de revisión, Bingham et al. (2009) especulan que cuando las enfermedades foliares afectan los estratos inferiores del canopeo, habrá un menor impacto en la absorción de radiación en aquellos cultivos con altos valores de IAF o en cultivares con hojas planófilas (altos valores de k). Las simulaciones realizadas en la presente tesis para cultivos con diferentes combinaciones de niveles de IAF y valores de k demostraron que, cuando las enfermedades foliares se ubican en los estratos foliares inferiores, las reducciones en la E_a son mayores en aquellos cultivos con menores niveles de cobertura (IAF) y/o con bajos valores de k debido a que permiten una mayor participación de tales estratos en la intercepción de radiación (Figura 5.1). Estos resultados permiten aceptar la tercera hipótesis planteada: “*En aquellas situaciones en que las enfermedades aparecen en los estratos foliares inferiores del canopeo la reducción en la absorción de radiación como consecuencia de las mismas es mayor en canopeos abiertos (bajo IAF) y/o con hojas más erectas (bajo k) que dejan pasar más luz hacia estratos de hojas basales*”.

Respecto del efecto de las enfermedades sobre la EUR, la otra variable determinante de la producción de biomasa, los resultados encontrados en el Capítulo 3 demostraron que no existió efecto significativo de las enfermedades foliares (roya de la hoja y patógenos necrotróficos) sobre la misma a escala de cultivo lo cual permite aceptar la cuarta hipótesis planteada en esta tesis: “*La presencia de enfermedades foliares no reduce la EUR en el cultivo de trigo*”. Contrariamente, los resultados del Capítulo 4 mostraron que la fotosíntesis a saturación lumínica (F_{max}) del área foliar verde de hojas enfermas con roya de la hoja se redujo en comparación con hojas sanas (Figura 5.1). Es decir, la roya de la hoja redujo la EUR a escala foliar al menos en hojas expuestas a saturación lumínica. Sin embargo, si bien se encontraron reducciones en la F_{max} , la roya de la hoja no afectó la eficiencia cuántica aparente del área verde. Esto pone de manifiesto que, la EUR de hojas enfermas con roya de la hoja no fue afectada cuando las mismas fueron expuestas bajos niveles de radiación (Figura 5.1). Entonces, considerando que las hojas del cultivo están expuestas a niveles cambiantes de radiación debido al cambio en el ángulo de incidencia de los rayos solares (Horton, 2000) y debido a la atenuación de la luz con la profundidad del canopeo (Dreccer et al., 2000) la EUR del canopeo, vista como promedio de todas las hojas del canopeo y durante todo el día, probablemente sea menos afectada que la EUR de una hoja puntual expuesta a niveles de radiación cercanos a los saturantes.

Considerando que el nitrógeno foliar es componente de muchas de las moléculas involucradas en el proceso fotosintético (i.e. clorofila, fotosistemas, cadena de electrones, enzimas involucradas en la fijación de carbono, etc.) es esperable que la fotosíntesis se encuentre más limitada en hojas con bajo contenido de nitrógeno. De esta manera, el aparato fotosintético de hojas con bajo contenido de nitrógeno se encuentra más saturado que el de hojas con alto contenido nitrogenado ante un mismo nivel de radiación, con lo cual cualquier efecto sobre la fotosíntesis sería más marcado en las primeras (i.e. en hojas con bajo contenido de nitrógeno). Sin embargo, los resultados del Capítulo 4 no evidenciaron diferencias significativas entre tratamientos de distinta disponibilidad nitrogenada en el efecto de la roya de la hoja sobre la tasa de fotosíntesis del área verde. Considerando estos resultados y lo comentado en el párrafo anterior, es posible aceptar solo parcialmente la quinta hipótesis planteada: *“A nivel de hoja la fotosíntesis del tejido verde remanente de una hoja enferma por roya solo será reducida cuando la misma se encuentre expuesta a altos niveles de radiación incidente (i.e. niveles de saturación lumínica) y en aquellas hojas deficientes en nitrógeno”*. Es decir, solo es posible aceptar la hipótesis en lo que respecta a los niveles de radiación pero no es posible aceptarla en lo que respecta a la concentración de nitrógeno foliar.

5.3. Efecto de la roya de la hoja sobre la fotosíntesis foliar y procesos relacionados.

En esta sección se presentan las conclusiones extraídas vinculadas con el impacto de la roya de la hoja sobre las variables que determinan la tasa de fotosíntesis a escala foliar. A modo de resumen se presenta en forma de diagrama en la Figura 5.2 el efecto del patógeno en cada una de las variables y procesos correspondientes.

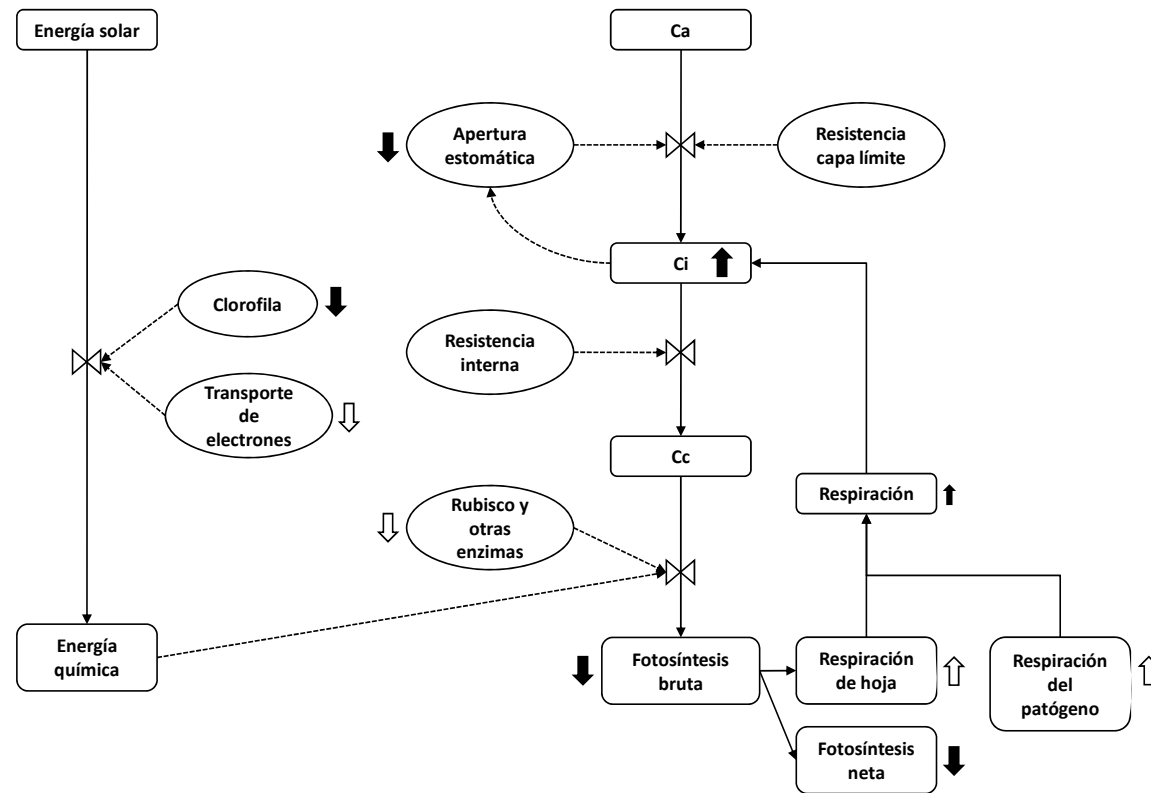


Figura 5.2.: Esquema simplificado que muestra las principales variables y procesos determinantes de la fotosíntesis foliar. Las flechas gruesas indican el sentido del efecto de la roya de la hoja sobre cada variable. Las flechas negras indican efectos medidos mientras que las blancas indican efectos probables. Ca: concentración de CO₂ ambiental; Ci: concentración interna de CO₂ (en la cámara sub-estomática) y Cc: concentración de CO₂ a nivel de cloroplastos.

Si bien la roya de la hoja causó incrementos en la tasa respiratoria, en términos absolutos, estos incrementos fueron insignificantes comparados con las reducciones en la tasa de fotosíntesis bruta a saturación lumínica (Figura 5.2). La liberación de CO₂ al medio, que es la forma en que se midió la tasa de respiración en la presente tesis, puede ser consecuencia de (i) la respiración de células vegetales y/o de (ii) la propia respiración del patógeno. Con la aproximación y observaciones realizadas en la presente tesis no es posible determinar si los incrementos en la tasa de respiración son debidos a incrementos en la respiración del hospedante (hoja de trigo) o a la propia respiración del patógeno. Existen trabajos que atribuyen estos incrementos principalmente a aumentos en la respiración del hospedante (Scholes y Farrar, 1986; Lopes y Berger, 2001; Bassanezi et al., 2002; Kumudini et al., 2008a), mientras otros autores argumentan que es solo consecuencia de la respiración del patógeno (Owera et al., 1981).

Los procesos que hacen a la fotosíntesis bruta de una hoja pueden dividirse en dos fases: i) una fase lumínica en la que se captura luz solar y se convierte en energía química en la que participan clorofilas, fotosistemas y los componentes que forman la cadena de transporte de electrones, entre otros y; ii) una fase bioquímica en la que se fija CO₂ desde el ambiente en compuestos orgánicos (fotoasimilados) a partir de la energía generada en la etapa lumínica y en la que participan los estomas, resistencias internas al flujo de CO₂ y enzimas relacionadas a los procesos de fijación de carbono (Figura 5.2).

Los resultados del Capítulo 4 demostraron que el área verde de las hojas enfermas tuvo mayor concentración interna de CO₂ (Ci) que las hojas sanas cuando las comparaciones fueron hechas para similares valores de conductancia (apertura estomática) (Figura 5.2). Estos resultados ponen en evidencia que, el efecto de la roya de la hoja sobre la tasa fotosintética fue mediado por procesos no estomáticos como son la captura de luz (por clorofilas), la cadena de transporte de electrones (incluyendo los fotosistemas) y/o procesos ligados a la carboxilación en los que intervienen la Rubisco y otras enzimas. En este sentido, se observaron importantes reducciones de unidades SPAD (i.e. clorofila) en el área verde de hojas enfermas en comparación con las hojas sanas, lo cual confirma que al menos los procesos que hacen a la captura de luz podrían encontrarse afectados por el patógeno. Existen evidencias que demuestran que ciertos patógenos disminuyen los niveles de clorofila de las hojas, tal es el caso de roya de la hoja de la cebada (*Puccinia hordei*) (Scholes y Farrar, 1986) y de *Septoria tritici* afectando hojas de trigo (Zuckerman et al., 1997). Otros trabajos muestran efectos de los patógenos sobre la eficiencia de carboxilación (i.e. cantidad y eficiencia de la enzima Rubisco) (Walters y Ayres, 1984; Rabbinge et al., 1985) o sobre la actividad de los fotosistemas (Kumudini et al., 2008a).

A su vez, se observó que las hojas enfermas tuvieron menor conductancia estomática del área foliar verde remanente en comparación con las hojas sanas. Sin embargo, esta reducción solo ocurrió bajo condiciones de no limitación por conductancia al ingreso de CO₂ (altos valores de conductancia) con lo cual difícilmente haya afectado la fotosíntesis. Por tal motivo, y por lo expuesto en el párrafo anterior, es posible concluir que la reducción en la tasa fotosintética no fue mediada por reducciones en la conductancia estomática sino que fue consecuencia de efectos sobre el aparato fotosintético *per se*.

5.4. Aplicaciones de los resultados del presente estudio

Si bien en la presente tesis solo se estudió el efecto sobre la producción de biomasa durante el llenado de granos sin determinar los efectos directos sobre el rendimiento, numerosos trabajos demuestran la existencia de reducciones en el peso de granos ante la presencia de enfermedades durante dicho período (Gooding et al., 1994; Gooding et al., 2000; Pepler et al., 2006; Serrago et al., 2011). De todos modos, es importante señalar en este punto, que el efecto de las enfermedades sobre el peso de granos puede ser variable (Gooding et al., 1994; Pepler et al., 2006) dependiendo de la relación fuente/destino (Serrago et al., 2011), es decir, de la cantidad de asimilados disponible por grano fijado. Los asimilados (fuente) para el crecimiento de los granos (destino) provienen de la fotosíntesis de las hojas pero también de la fotosíntesis de las espigas y de la removilización de reservas almacenadas en los tallos. Así situaciones con relaciones fuente/destino más deprimidas, ya sea por poca fuente (i.e. fotosíntesis foliar afectada o bajo nivel de reservas en tallo) o por alto destino (i.e. cultivos con alto número de granos fijados), serán más afectadas en su peso de granos por la presencia de enfermedades durante el período de llenado (Serrago et al., 2011). En este mismo sentido, podría existir variabilidad en el efecto de las enfermedades sobre el peso de granos si se compararan genotipos con diferente capacidad de almacenar reservas en tallo o con diferente capacidad de fotosíntesis de espiga. Sin embargo, no existen estudios que estudien tal especulación de manera clara.

Tal como se comentó en el capítulo introductorio, en lo que respecta al manejo de enfermedades foliares de los cultivos, los productores usualmente consideran los índices de severidad y/o incidencia como la principal herramienta a la hora de tomar decisiones de control químico. Sin embargo, los resultados del presente estudio demostraron que otros aspectos, además de estos índices que cuantifican el grado de infección de los patógenos, deberían ser tenidos en cuenta al momento de decidir controlar las enfermedades foliares de un cultivo: (i) el nivel de IAF, principalmente en aquellas situaciones de cultivo en las que el IAF se encuentra cercano o por debajo de su valor crítico durante la etapa crítica para la definición del rendimiento (una estimación visual a campo de la distancia del IAF de su valor crítico podría ser útil en este sentido) y; (ii) la arquitectura del canopeo asociada a la distribución de luz en el perfil de hojas junto con (iii) la distribución vertical de enfermedades en el cultivo.

Tal como los demostraron los resultados de esta tesis, las mayores reducciones en la absorción de radiación ocurrieron cuando las enfermedades alcanzaron los estratos foliares superiores (la HB principalmente) dado que interceptan mayor cantidad de radiación en comparación con hojas inferiores. Estos resultados, ponen en evidencia entonces la importancia de proteger de las enfermedades las hojas superiores del cultivo.

Por otro lado, cuando las enfermedades foliares permanecen en hojas inferiores su efecto sobre la intercepción de radiación por área foliar verde y por ende sobre la tasa de crecimiento dependerá del tamaño (nivel de IAF) y la arquitectura del canopeo (coeficiente k). Así, canopeos cerrados (altos niveles de IAF y/o altos valores de k), las hojas de los estratos foliares superiores interceptan la mayor parte de la radiación que incide sobre el cultivo dejando pasar muy poca luz hacia los estratos foliares basales. Por ello, mientras las enfermedades foliares permanezcan en las hojas basales del cultivo es poco probable que afecten la absorción de radiación y por consiguiente la producción de biomasa y rendimiento. Por el contrario, en canopeos abiertos (bajos

niveles de IAF y/o bajos valores de k) los estratos foliares basales tienen una mayor participación en la interceptación de radiación (respecto de canopeos cerrados) con lo cual se debe estar más atento cuando los mismos sean afectados por las enfermedades en comparación a lo que ocurre en un canopeo cerrado. En relación a la distribución de enfermedades en el perfil vertical del canopeo, los resultados de este trabajo mostraron que para las condiciones exploradas en estos experimentos los estratos foliares superiores fueron afectados en mayor medida por roya de la hoja, mientras que los patógenos necrotróficos afectaron principalmente los estratos foliares inferiores.

En lo que respecta al mejoramiento genético, uno de los caracteres ecofisiológicos propuestos para mejorar la EUR a nivel de canopeo y con ello el rendimiento, es modificar el ángulo de inserción de las hojas logrando hojas más erectas (bajos valores de k) tratando de conseguir una mejor distribución de la luz en el perfil del canopeo. Este cambio en la arquitectura del cultivo permitiría reducir la cantidad de hojas saturadas (ineficientes) por luz en las posiciones superiores del canopeo e incrementar la disponibilidad de luz para las hojas no saturadas (eficientes) de las posiciones basales (Reynolds et al., 2009). Aunque seleccionar plantas con tal ideotipo es factible mediante el mejoramiento genético (Donald, 1968), la introducción de resistencia a enfermedades en tales plantas es crítica dado que, como se comentó en el párrafo anterior, usualmente muchas enfermedades causadas por patógenos necrotróficos afectan principalmente las hojas de los estratos basales del canopeo y una importante proporción de la radiación incidente es interceptada por estos estratos en canopeos abiertos (i.e. bajo k) tal como fue demostrado en el presente estudio.

Por último, existen numerosos modelos de simulación de crecimiento y rendimiento de cultivos de granos que han sido probados y testeados en una amplia diversidad de situaciones (e.g. DSSAT, APSIM, etc.). Sin embargo, la gran mayoría de estos modelos no toman en cuenta a los factores bióticos (i.e. enfermedades, plagas y malezas), lo cual no posibilita que los mismos puedan ser utilizados en la toma de decisiones respecto del manejo de enfermedades. Basado en la estructura de un modelo diseñado para arroz denominado RICEPEST (Willocquet et al., 2002), recientemente se ha desarrollado WHEATPEST (Willocquet et al., 2008) un modelo que tiene por objetivo simular de manera sencilla, abierta y genérica el efecto dañino de las adversidades bióticas sobre la producción de biomasa y rendimiento de cultivos de trigo invernales. Si bien el estado de desarrollo del modelo es incipiente y requiere ser testado en un mayor número de situaciones agronómicas y ambientales, pone de manifiesto la estructura básica sobre la que es necesario trabajar para lograr modelos de simulación que permitan considerar adversidades bióticas. La estructura de este tipo de modelos está basada en una aproximación ecofisiológica que intenta simular el efecto de cada adversidad sobre las diferentes variables fisiológicas de generación de biomasa (i.e. IAF, captura de radiación, EUR, etc.). La aproximación realizada en la presente tesis, la cual intenta comprender los mecanismos que son afectados por las enfermedades a nivel ecofisiológico permitirá ir construyendo y nutriendo modelos funcionales y/o mecanísticos que permitan estimar el efecto de las adversidades sobre el rendimiento de los cultivos y con ello apoyar a la toma de decisiones de manejo. Por otro lado, para nutrir el desarrollo de este tipo de modelos es necesario generar información que permita predecir el desarrollo y avance de las adversidades (en tiempo y espacio) en un cultivo expuesto a determinadas condiciones de manejo y ambientales.

5.5. Nuevos interrogantes surgidos a partir del presente estudio

Del análisis de los resultados obtenidos en la presente tesis surgieron nuevos interrogantes que merecen ser estudiados en futuras investigaciones. El estudio de tales interrogantes permitirá seguir aportando información respecto del efecto de las enfermedades foliares sobre las variables ecofisiológicas del cultivo de trigo con el objetivo de mejorar la toma de decisiones relativas al manejo de enfermedades. Los interrogantes surgidos se detallan a continuación:

5.5.1. Tolerancia a enfermedades en cultivares con altos valores de k

Tal como fue mencionado en párrafos anteriores y como fue hipotetizado por Bingham et al. (2009), cultivares con hojas más planófilas (altos valores de k) y que por tal motivo intercepten la mayor parte de la radiación incidente sobre el cultivo con las hojas superiores, deberían presentar mayor tolerancia a las enfermedades que atacan mayormente los estratos foliares inferiores (e.g. manchas causadas por *Drechslera tritici-repentis* y *Septoria tritici*). Aunque tal especulación fue puesta a prueba en el presente estudio (Capítulo 3), la aproximación fue llevada a cabo mediante simulaciones en las que se evaluó el efecto sobre la absorción de radiación de diferentes posicionamientos verticales de la enfermedad en cultivos con diferentes valores de k . Por lo tanto, sería importante validar tales simulaciones testeando experimentalmente cultivares que difieran solo en su valor de k expuestos a infecciones de enfermedades en los estratos foliares inferiores del canopeo.

5.5.2. Efectos de la roya de la hoja sobre la fotosíntesis de hojas expuestas a intensidades de luz cambiantes según su posición vertical en el canopeo y momento del día.

Tal como fue demostrado, la roya de la hoja redujo la fotosíntesis del área verde de hojas expuestas a condiciones de saturación lumínica. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas para esta variable entre hojas enfermas y sanas expuestas a bajos niveles de radiación. Solo algunas hojas del canopeo (en general las superiores) y durante determinados momentos del día son expuestas a condiciones saturantes de luz en condiciones de cultivo. Con el objetivo de estudiar qué ocurre con la fotosíntesis del área foliar verde de hojas enfermas a nivel de cultivo sería necesario evaluar la fotosíntesis de las hojas de los diferentes estratos y expuestas a diferentes niveles de intensidad de radiación. Se deberían conducir entonces, experimentos diseñados para medir la fotosíntesis foliar de diferentes estratos y durante diferentes momentos del día en plantas sanas y enfermas tratando de capturar lo que ocurre en promedio a escala de cultivo.

5.5.3. Efecto de la roya de la hoja sobre procesos relacionados con la fotosíntesis

Las mediciones de intercambio gaseoso a escala de hoja realizadas en esta tesis permitieron determinar que el efecto de la roya de la hoja sobre la fotosíntesis estuvo mediado por efectos sobre componentes del aparato fotosintético y no sobre la apertura estomática. En este sentido, se observó que el área verde de las hojas enfermas tuvo

menor contenido de clorofila que las hojas sanas. Sin embargo, otros componentes del aparato fotosintético podrían también encontrarse afectados por el patógeno. Existen evidencias que muestran efectos de los patógenos sobre la eficiencia de carboxilación (i.e. cantidad y eficiencia de la enzima Rubisco) (Walters y Ayres, 1984; Rabbinge et al., 1985) o sobre la actividad de los fotosistemas (Kumudini et al., 2008a). Por un lado, mediante la construcción de curvas de fotosíntesis neta en función de la concentración interna de CO₂ para hojas sanas y enfermas podría dilucidarse si el patógeno afecta la eficiencia de carboxilación (i.e. actividad de la Rubisco) y/o la capacidad de la cadena de transporte de electrones (Lambers et al., 1998). Por otro lado, mediante mediciones de fluorometría sería posible estudiar los efectos sobre el funcionamiento de los fotosistemas y la cadena de transporte de electrones (Lambers et al., 1998).

La dilucidación de estos interrogantes permitirán en el futuro comprender los mecanismos que determinan las reducciones en la capacidad fotosintética del cultivo a nivel foliar y cuantificar el impacto de dicha reducción a nivel de canopeo. Por otro lado, comprender y validar el impacto diferencial de las enfermedades asociado a la estructura vertical del canopeo será de gran utilidad en el contexto del mejoramiento vegetal a los fines de diseñar materiales con mejor distribución vertical de radiación dentro del canopeo pero considerando la necesidad de contar con resistencia a las enfermedades foliares. Sin duda, la interdisciplinaridad entre la fitopatología, el mejoramiento vegetal y la ecofisiología es el triangulo que permitirá desarrollar modelos de tipo funcional y/o mecanísticos para comprender el impacto de las enfermedades a nivel de canopeo y diseñar sobre dicha base: i) materiales de buen comportamiento ante la presencia de enfermedades foliares y ii) herramientas para la toma de decisiones respecto del manejo de estas adversidades bióticas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Abbate, P.E., Andrade, F.H., Lazaro, L., Bariffi, J.H., Berardocco, H.G., Inza, V.H., Marturano, F., 1998. Grain yield increase in recent Argentine wheat cultivars. *Crop Sci.* 38, 1203-1209.
2. Andrade, F., 1995. Analysis of growth and yield of maize, sunflower and soybean grown at Balcarce, Argentina. *Field Crops Res.* 41, 1-12.
3. Annone, J.G., García, R., Botta, G., Ivancovich, A., 2001. Pérdidas de rendimiento ocasionadas por la "Roya de la Hoja" y la "Mancha Amarilla" del trigo: estimaciones en el norte de la Provincia de Buenos Aires. *Rev. Tec. Agropecuaria VI*, 21-23.
4. Atkin, O.K., Evans, J.R., Ball, M.C., Lambers, H., Pons, T.L., 2000. Leaf respiration of snow gum in the light and dark. Interactions between temperature and irradiance. *Plant Physiol.* 122, 915-924.
5. Atkin, O.K., Westbeek, M.H.M., Cambridge, M.L., Lambers, H., Pons, T.L., 1997. Leaf respiration in light and darkness (A comparison of slow- and fast-growing *Poa* species). *Plant Physiol.* 113, 961-965.
6. Bancal, M.-O., Robert, C., Ney, B., 2007. Modelling wheat growth and yield losses from late epidemics of foliar diseases using loss of green leaf area per layer and pre-anthesis reserves. *Ann. Bot.* 100, 777-789.
7. Bassanezi, R.B., Amorim, L., Bergamin Filho, A., Berger, R.D., 2002. Gas exchange and emission of chlorophyll fluorescence during the monocycle of rust, angular leaf spot and anthracnose on bean leaves as a function of their trophic characteristics. *J. Phytopathol.* 150, 37-47.
8. Bassanezi, R.B., Amorim, L., Bergamin Filho, A., Hau, B., Berger, R.D., 2001. Accounting for photosynthetic efficiency of bean leaves with rust, angular leaf spot and anthracnose to assess crop damage. *Plant Pathol.* 50, 443-452.
9. Bastiaans, L., 1991. Ratio between virtual and visual lesion size as a measure to describe reduction in leaf photosynthesis of rice due to leaf blast. *Phytopathology* 81, 611-615.
10. Bastiaans, L., 1993. Effects of leaf blast on photosynthesis of rice. 1. Leaf photosynthesis. *Neth. J. Plant Pathol.* 99, 197-203.
11. Bastiaans, L., Kropff, M.J., 1993. Effects of leaf blast on photosynthesis of rice. 2. Canopy photosynthesis. *Neth. J. Plant Pathol.* 99, 205-217.
12. Bastiaans, L., Roumen, E.C., 1993. Effect on leaf photosynthetic rate by leaf blast for rice cultivars with different types and levels of resistance. *Euphytica* 66, 81-87.
13. Béasse, C., Ney, B., Tivoli, B., 2000. A simple model of pea (*Pisum sativum*) growth affected by *Mycosphaerella pinodes*. *Plant Pathol.* 49, 187-200.
14. Bergamin Filho, A., Carneiro, S.M.T.P.G., Godoy, C.V., Amorim, L., Berger, R.D., Hau, B., 1997. Angular leaf spot of *Phaseolus* beans: Relationship between disease, healthy leaf area and yield. *Phytopathology* 87, 506-515.
15. Bertheloot, J., Martre, P., Andrieu, B., 2008. Dynamics of light and nitrogen distribution during grain filling within wheat canopy. *Plant Physiol.* 148, 1707-1720.
16. Bethenod, O., Huber, L., Slimi, H., 2001. Photosynthetic response of wheat to stress induced by *Puccinia recondita* and post-infection drought. *Photosynthetica* 39, 581-590.
17. Bhathal, J.S., Loughman, R., Speijers, J., 2003. Yield reduction in wheat in relation to leaf disease from yellow (tan) spot and *Septoria nodorum* blotch. *Eur. J. Plant Pathol.* 109, 435-443.

18. Bingham, I.J., Walters, D.R., Foulkes, M.J., Paveley, N.D., 2009. Crop traits and the tolerance of wheat and barley to foliar disease. *Ann. Appl. Biol.* 154, 159-173.
19. Bonhomme, R., 2000. Beware of comparing RUE values calculated from PAR vs solar radiation or absorbed vs intercepted radiation. *Field Crops Res.* 68, 247-252.
20. Boote, K.J., Jones, J.W., Mishoe, J.W., Berger, R.D., 1983. Coupling pests to crop growth simulators to predict yield reductions. *Phytopathology* 73, 1581-1587.
21. Borrás, L., Slafer, G.A., Otegui, M.E., 2004. Seed dry weight response to source-sink manipulations in wheat, maize and soybean: a quantitative reappraisal. *Field Crops Res.* 86, 131-146.
22. Bowden, R.L., Rouse, D.I., Sharkey, T.D., 1990. Mechanism of photosynthesis decrease by *Verticillium dahliae* in potato. *Plant Physiol.* 94, 1048-1055.
23. Bryson, R.J., Paveley, N.D., Clark, W.S., Sylvester-Bradley, R., Scott, R.K., 1997. Use of in-field measurements of green leaf area and incident radiation to estimate the effects of yellow rust epidemics on the yield of winter wheat. *Eur. J. Agron.* 7, 53-62.
24. Carmona, M., 2001. Enfermedades del trigo y su control. Trigo: Cuadernillo de actualización técnica. CREA, pp. 78-93.
25. Carmona, M., Cortese, P., Ferrazini, M., Moschini, R.C., Pioli, R., Reis, E.M., 1998. Nuevo enfoque para el control químico de la mancha amarilla (*Drechslera tritici repentis*): Determinación de umbrales de daño económico y de acción. IV Congreso Nacional de Trigo y II Simposio Nacional de Cereales de siembra Otoño-Invernal, Mar del Plata, Argentina, p. (IV) 39.
26. Carretero, R., Serrago, R.A., Bancal, M.O., Perelló, A.E., Miralles, D.J., 2010. Absorbed radiation and radiation use efficiency as affected by foliar diseases in relation to their vertical position into the canopy in wheat. *Field Crops Res.* 116, 184-195.
27. Connor, D.J., Hall, A.J., Sadras, V.O., 1993. Effect of nitrogen content on the photosynthetic characteristics of sunflower leaves. *Aust. J. Plant Physiol.* 20, 251-263.
28. Cornish, P.S., Baker, G.R., Murray, G.M., 1990. Physiological responses of wheat (*Triticum aestivum*) to infection with *Mycosphaerella graminicola* causing Septoria tritici blotch. *Aust. J. Agric. Res.* 41, 317-327.
29. Cortese, P., Carmona, M., Pioli, R., Moschini, R.C., Reis, E.M., 1998. Nuevo enfoque para el control químico de la mancha de la hoja (*Septoria tritici*): Determinación de umbrales de daño económico y de acción. IV Congreso Nacional de Trigo y II Simposio Nacional de Cereales de siembra Otoño-Invernal, Mar del Plata, Argentina, p. (IV) 04.
30. Di Rienzo, J.A., Robledo, C.W., 2002. InfoStat/Professional. v.1.1. Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.
31. Donald, C.M., 1968. The breeding of crop ideotypes. *Euphytica* 17, 385-403.
32. Dreccer, M.F., Van Oijen, M., Schapendonk, A.H.C.M., Pot, C.S., Rabbinge, R., 2000. Dynamics of vertical leaf nitrogen distribution in a vegetative wheat canopy. Impact on canopy photosynthesis. *Ann. Bot.* 86, 821-831.
33. Duveiller, E., Kandel, Y.R., Sharma, R.C., Shrestha, S.M., 2005. Epidemiology of foliar blights (Spot blotch and Tan spot) of wheat in the plains bordering the Himalayas. *Phytopathology* 95, 248-256.

34. Duveiller, E., Singh, R., Nicol, J., 2007. The challenges of maintaining wheat productivity: pests, diseases, and potential epidemics. *Euphytica* 157, 417-430.
35. Erickson, J.E., Stanosz, G.R., Kruger, E.L., 2003. Photosynthetic consequences of Marssonina leaf spot differ between two poplar hybrids. *New Phytol.* 161, 577-583.
36. Evans, J.R., 1983. Nitrogen and photosynthesis in the flag leaf of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Physiol.* 72, 297-302.
37. Evans, J.R., 1989. Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves of C₃ plants. *Oecologia* 78, 9-19.
38. Eversmeyer, M.G., Kramer, C.L., 1992. Local dispersal and deposition of fungal spores from a wheat canopy. *Grana* 31, 53-59.
39. Eversmeyer, M.G., Kramer, C.L., Burleigh, J.R., 1973. Vertical spore concentrations of three wheat pathogens above a wheat field. *Phytopathology* 63, 211-218.
40. Fischer, R.A., 1985. Number of kernels in wheat crops and the influence of solar radiation and temperature. *J. Agric. Sci.* 100, 447-461.
41. Gardner, F.P., Pearce, R.B., Mitchel, R.L., 1985. *Physiology of Crop Plants*. Iowa State University Press, USA.
42. Gaunt, R.E., 1995. The relationship between plant disease severity and yield. *Annu. Rev. Phytopathol.* 33, 119-144.
43. Gooding, M.J., Dimmock, J.P.R.E., France, J., Jones, S.A., 2000. Green leaf area decline of wheat flag leaves: the influence of fungicides and relationships with mean grain weight and grain yield. *Ann. Appl. Biol.* 136, 77-84.
44. Gooding, M.J., Smith, S.P., Davies, W.P., Kettlewell, P.S., 1994. Effects of late-season applications of propiconazole and tridemorph on disease, senescence, grain development and the breadmaking quality of winter wheat. *Crop Prot.* 13, 362-370.
45. Goodwin, P.H., 1992. Effect of common bacterial blight on leaf photosynthesis of bean. *Can. J. Plant Pathol.* 14, 203-206.
46. Goudriaan, J., van Keulen, H., 1979. The direct and indirect effects of nitrogen shortage on photosynthesis and transpiration in maize and sunflower. *Neth. J. Agric. Sci.* 27, 227-234.
47. Hampton, R.E., Wulschleger, S.D., Oosterhuis, D.M., 1990. Impact of verticillium wilt on net photosynthesis, respiration and photorespiration in field-grown cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Physiol. Mol. Plant P.* 37, 271-280.
48. Haverkort, A.J., Rouse, D.I., Turkensteen, L.J., 1990. The influence of *Verticillium dahliae* and drought on potato crop growth. 1. Effects on gas exchange and stomatal behaviour of individual leaves and crop canopies. *Neth. J. Plant Pathol.* 96, 273-289.
49. Hipps, L.E., Asrar, G., Kanemasu, E.T., 1983. Assessing the interception of photosynthetically active radiation in winter wheat. *Agric. Meteorol.* 28, 253-259.
50. Horton, P., 2000. Prospects for crop improvement through the genetic manipulation of photosynthesis: morphological and biochemical aspects of light capture. *J. Exp. Bot.* 51, 475-485.
51. James, W.C., 1974. Assessment of plant diseases and losses. *Annu. Rev. Phytopathol.* 12, 27-48.
52. Jesus Junior, W.C., Vale, F.X.R., Coelho, R.R., Hau, B., Zambolim, L., Costa, L.C., Bergamin Filho, A., 2001. Effects of angular leaf spot and rust on yield loss of *Phaseolus vulgaris*. *Phytopathology* 91, 1045-1053.

53. Jesus Junior, W.C., Vale, F.X.R., Coelho, R.R., Paul, P.A., Hau, B., Bergamin Filho, A., Zambolim, L., Berger, R.D., 2003. Relationships between angular leaf spot, healthy leaf area, effective leaf area and yield of *Phaseolus vulgaris*. Eur. J. Plant Pathol. 109, 625-632.
54. Johnson, K.B., 1987. Defoliation, disease, and growth: a reply. Phytopathology 77, 1495-1497.
55. Johnson, K.B., 1992. Evaluation of a mechanistic model that describes potato crop losses caused by multiple pests. Phytopathology 82, 363-369.
56. Kosuge, T., 1978. The capture and use of energy by diseased plants. In: Horsfall, J.G., Cowling, E.B. (Eds.), Plant disease. An advanced treatise. Volume III. How plants suffer from disease. Academic Press, New York, p. 487.
57. Kumudini, S., Godoy, C.V., Board, J.E., Omielan, J., Tollenaar, M., 2008a. Impact of *Phakopsora pachyrhizi* infection on soybean leaf photosynthesis and radiation absorption. Crop Sci. 48, 2343-2350.
58. Kumudini, S., Godoy, C.V., Board, J.E., Omielan, J., Tollenaar, M., 2008b. Mechanisms involved in soybean rust-induced yield reduction. Crop Sci. 48, 2334-2342.
59. Lamari, L., 2002. ASSESS: Image analysis software for plant disease quantification. APS, University of Manitoba, Winnipeg, Canada.
60. Lambers, H., Chapin III, F.S., Pons, T.L., 1998. Photosynthesis, respiration, and long-distance transport. In: Lambers, H., Chapin III, F.S., Pons, T.L. (Eds.), Plant physiological ecology. Springer Science+Business Media Inc., New York, p. 540.
61. Lang, C.A., 2002. Simple microdetermination of Kjeldahl nitrogen in biological materials. Anal. Chem. 30, 1692-1694.
62. Livne, A., 1964. Photosynthesis in healthy and rust-affected plants. Plant Physiol. 39, 617-621.
63. Loomis, R.S., Connor, D.J., 2002. Fotosíntesis. In: Loomis, R.S., Connor, D.J. (Eds.), Ecología de cultivos: Productividad y manejo en sistemas agrarios. Mundi-Prensa, Madrid - Barcelona - México, p. 593.
64. Lopes, D.B., Berger, R.D., 2001. The effects of rust and anthracnose on the photosynthetic competence of diseased bean leaves. Phytopathology 91, 212-220.
65. Lupton, F.G.H., 1972. Further experiments on photosynthesis and translocation in wheat. Ann. Appl. Biol. 71, 69-79.
66. Madden, L.V., Nutter, F.W.J., 1995. Modeling crop losses at field scale. Can. J. Plant Pathol. 17, 124-137.
67. Madden, L.V., Pennypacker, S.P., Antle, C.E., Kingsolver, C.H., 1981. A loss model for crops. Phytopathology 71, 685-689.
68. Madeira, A.C., Clark, J.A., Rossall, S., 1994. Growth and light interception in field bean (*Vicia faba*) infected by *Ascochyta fabae*. J. Agric. Sci. 123, 225-232.
69. McGrath, M.T., Pennypacker, S.P., 1990. Alteration of physiological processes in wheat flag leaves caused by stem rust and leaf rust. Phytopathology 80, 677-686.
70. McNew, G.L., 1960. The nature, origin and evolution of parasitism. In: Horsfall, J.G., Dimond, A.E. (Eds.), Plant pathology: An Advance Treatise. University Wisconsin Press, Madison, WI, pp. 19-69.
71. McRoberts, N., Hughes, G., Madden, L.V., 2003. The theoretical basis and practical application of relationships between different disease intensity measurements in plants. Ann. Appl. Biol. 142, 191-211.

72. Mignucci, J.S., Boyer, J.S., 1979. Inhibition of photosynthesis and transpiration in soybean infected by *Microphaera diffusa*. *Phytopathology* 69, 227-230.
73. Miralles, D.J., Katz, S.D., Colloca, A., Slafer, G.A., 1998. Floret development in near isogenic wheat lines differing in plant height. *Field Crops Research* 59, 21-30.
74. Miralles, D.J., Slafer, G.A., 1997. Radiation interception and radiation use efficiency of near-isogenic wheat lines with different height. *Euphytica* 97, 201-208.
75. Miralles, D.J., Slafer, G.A., 1999. Wheat development. In: Satorre, E.H., Slafer, G.A. (Eds.), *Wheat: Ecology and Physiology of Yield Determination*. Food Product Press, New York, USA, pp. 14-43.
76. Monteith, J.L., Unsworth, M.H., 1990. *Principles of Environmental Physics*. Edward Arnold, London.
77. Mumford, J.D., Norton, G.A., 1984. Economics of decision making in pest management. *Annu. Rev. Entomol.* 29, 157-174.
78. Murray, D.C., Walters, D.R., 1992. Increased photosynthesis and resistance to rust infection in upper, uninfected leaves of rusted broad bean (*Vicia faba* L.). *New Phytol.* 120, 235-242.
79. Oerke, E.-C., Dehne, H.-W., 1997. Global crop production and the efficacy of crop protection – current situation and future trends. *Eur. J. Plant Pathol.* 103, 203-215.
80. Oerke, E.-C., Dehne, H.-W., 2004. Safeguarding production-losses in major crops and the role of crop protection. *Crop Prot.* 23, 275-285.
81. Ower, S.A.P., Farrar, J.F., Whitbread, R., 1981. Growth and photosynthesis in barley infected with brown rust. *Physiol. Plant Pathol.* 18, 79-90.
82. Paveley, N.D., Lockley, K.D., Sylvester-Bradley, R., Thomas, J., 1997. Determinants of fungicide spray decisions for wheat. *Pestic. Sci.* 49, 379-388.
83. Paveley, N.D., Sylvester-Bradley, R., Scott, R.K., Day, W., 2001. Steps in predicting the relationship of yield on fungicide dose. *Phytopathology* 91, 708-716.
84. Pepler, S., Gooding, M.J., Ellis, R.H., 2006. Modelling simultaneously water content and dry matter dynamics of wheat grains. *Field Crops Res.* 96, 46-93.
85. Rabbinge, R., Jorritsma, I.T.M., Schans, J., 1985. Damage components of powdery mildew in winter wheat. *Neth. J. Plant Pathol.* 91, 235-247.
86. Rees, R.G., Mayer, R.J., Platz, G.J., 1981. Yield losses in wheat from Yellow Spot: A disease-loss relationship derived from single tillers. *Aust. J. Agric. Res.* 32, 851-859.
87. Reis, E.M., Leites, A., Forcelini, C.A., 2006. Relações entre intensidade da doença, refletância da radiação solar e rendimento de grãos no patossistema ferrugem da folha de trigo Embrapa 16. *Fitopatol. Bras.* 31, 447-454.
88. Reis, E.M., Santos, J.A.P., Blum, M.M.C., 2007. Critical-point yield model to estimate yield damage caused by *Cercospora zea-maydis* in corn. *Fitopatol. Bras.* 32, 110-113.
89. Reynolds, M., Foulkes, M.J., Slafer, G.A., Berry, P., Parry, M.A.J., Snape, J.W., Angus, W.J., 2009. Raising yield potential in wheat. *J. Exp. Bot.* 60, 1899-1918.
90. Ritchie, J.T., 1974. Atmosphere and soil water influences on the plant water balance. *Agric. Meteorol.* 14, 183-198.
91. Robert, C., Bancal, M.-O., Lannou, C., 2002. Wheat leaf rust uredospore production and carbon and nitrogen export in relation to lesion size and density. *Phytopathology* 92, 762-768.

92. Robert, C., Bancal, M.-O., Lannou, C., Ney, B., 2006. Quantification of the effects of *Septoria tritici* blotch on wheat leaf gas exchange with respect to lesion age, leaf number, and leaf nitrogen status. *J. Exp. Bot.* 57, 225-234.
93. Robert, C., Bancal, M.-O., Ney, B., Lannou, C., 2005. Wheat leaf photosynthesis loss due to leaf rust, with respect to lesion development and leaf nitrogen status. *New Phytol.* 165, 227-241.
94. Robert, C., Bancal, M.-O., Nicolas, P., Lannou, C., Ney, B., 2004. Analysis and modelling of effects of leaf rust and *Septoria tritici* blotch on wheat growth. *J. Exp. Bot.* 55, 1079-1094.
95. Scholes, J.D., Farrar, J.F., 1986. Increased rates of photosynthesis in localized regions of a barley leaf infected with brown rust. *New Phytol.* 104, 601-612.
96. Scholes, J.D., Rolfe, S.A., 1996. Photosynthesis in localised regions of oat leaves infected with crown rust (*Puccinia coronata*): quantitative imaging of chlorophyll fluorescence. *Planta* 199, 573-582.
97. Serrago, R.A., Carretero, R., Bancal, M.O., Miralles, D.J., 2009. Foliar diseases affect the eco-physiological attributes linked with yield and biomass in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Eur. J. Agron.* 31, 195-203.
98. Serrago, R.A., Carretero, R., Bancal, M.O., Miralles, D.J., 2011. Grain weight response to foliar diseases control in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Field Crops Res.* 120, 352-359.
99. Shtienberg, D., 1992. Effects of foliar diseases on gas exchange processes: A comparative study. *Phytopathology* 82, 760-765.
100. Simón, M.R., Perelló, A.E., Cordo, C.A., Struik, P.C., 2002. Influence of *Septoria tritici* on yield, yield components, and test weight of wheat under two nitrogen fertilization conditions. *Crop Sci.* 42, 1974-1981.
101. Sinclair, T.R., Horie, T., 1989. Leaf nitrogen, photosynthesis, and crop radiation use efficiency: A review. *Crop Sci.* 29, 90-98.
102. Sinclair, T.R., Muchow, R.C., 1999. Radiation use efficiency. In: Donald, L.S. (Ed.), *Advances in Agronomy*. Academic Press, pp. 215-265.
103. Thomas, M.R., Cook, R.J., King, J.E., 1989. Factors affecting development of *Septoria tritici* in winter wheat and its effect on yield. *Plant Pathol.* 38, 246-257.
104. Thorne, G.N., Pearman, L., Day, W., Todd, A.D., 1988. Estimation of radiation interception by winter wheat from measurements of leaf area. *J. Agric. Sci.* 110, 101-108.
105. Tiedemann, A.V., 1996. Single and combined effects of nitrogen fertilization and ozone on fungal leaf diseases on wheat. *J. Plant Dis. Prot.* 103, 409-419.
106. Trapani, N., Hall, A.J., Sadras, V.O., Vilella, F., 1992. Ontogenetic changes in radiation use efficiency of sunflower (*Helianthus annuus* L.) crops. *Field Crops Res.* 29, 301-316.
107. Uddling, J., Gelang-Alfredsson, J., Piikki, K., Pleijel, H., 2007. Evaluating the relationship between leaf chlorophyll concentration and SPAD-502 chlorophyll meter readings. *Photosynth. Res.* 91, 37-46.
108. Verreet, J.A., Klink, H., 2002. The biology of fungal pathogens. Vol. 1: Fungal pathogens and diseases of cereals. Department of Plant Pathology, Christian-Albrechts University. Kiel, Germany.
109. von Caemmerer, S., Farquhar, G.D., 1981. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. *Planta* 153, 376-387.
110. Waggoner, P.E., Berger, R.D., 1987. Defoliation, disease, and growth. *Phytopathology* 77, 393-398.

111. Walters, D.R., Ayres, P.G., 1984. Ribulose biphosphate carboxylase protein and enzymes of CO₂ assimilation in barley infected by powdery mildew (*Erysiphe graminis hordei*). J. Phytopathol. 109, 208-218.
112. Wang, Z.-M., Wei, A.-L., Zheng, D.-M., 2001. Photosynthetic characteristics of non-leaf organs of winter wheat cultivars differing in ear type and their relationship with grain mass per ear. Photosynthetica 39, 239-244.
113. Wiik, L., 2009. Yield and disease control in winter wheat in southern Sweden during 1977–2005. Crop Prot. 28, 82-89.
114. Willocquet, L., Aubertot, J.N., Lebard, S., Robert, C., Lannou, C., Savary, S., 2008. Simulating multiple pest damage in varying winter wheat production situations. Field Crops Res. 107, 12-28.
115. Willocquet, L., Savary, S., Fernandez, L., Elazegui, F.A., Castilla, N., Zhu, D., Tang, Q., Huang, S., Lin, X., Singh, H.M., Srivastava, R.K., 2002. Structure and validation of RICEPEST, a production situation-driven, crop growth model simulating rice yield response to multiple pest injuries for tropical Asia. Ecol. Model. 153, 247-268.
116. Xiao, C.L., Subbarao, K.V., 1998. Relationships between *Verticillium dahliae* inoculum density and wilt incidence, severity, and growth of cauliflower. Phytopathology 88, 1108-1115.
117. Yang, X.B., Zeng, S.M., 1989. Effect of yellow rust on yield components of winter wheat in China. Plant Pathol. 38, 1-8.
118. Zuckerman, E., Eshel, A., Eyal, Z., 1997. Physiological aspects related to tolerance of spring wheat cultivars to *Septoria tritici* blotch. Phytopathology 87, 60-65.